Ștefan Berceanu · Eugeniu Păunescu

BIOLOGIA ȘI PATOLOGIA IMUNITĂȚII



Prof. dr. doc. ŞTEFAN BERCEANU dr. EUGENIU PĂUNESCU

BIOLOGIA ŞI PATOLOGIA IMUNITĂŢII

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA
1981

Cuprins

VIII.

IX.

X.

XI.

XII.

Partea întîi

BIOLOGIA RĂSPUNSULUI IMUN

dr. EUG. PĂUNESCU

I

Sistemul imun

Noțiunea de *imunitate*[1] se referă la reacțiile specifice ale unui organism față de un anumit *antigen*, reacții care în ansamblu au tendința de a elimina substanțele străine din respectivul organism. Procesele de *răspuns imun* sînt rezultanta capacității celulelor imunocompetente de a recunoaște substanțele străine antigenice, cu care reacționează specific fie prin *receptori* prezenți pe membranele lor de suprafață, fie prin *anticorpi* eliberați în mediu.

Principalele antigene cu care organismul vine în mod natural în contact sînt microorganismele și produsele lor de metabolism. Infecția microbiană declanșează în organismele vertebrate reacții tipice de răspuns imun, care inițial limitează infecția, apoi mijlocesc eliminarea ei. Organismele care au trecut printr-o astfel de infecție microbiană, de regulă devin rezistente la o nouă infecție *cu aceeași germeni*. Imunitatea instalată ca urmare a primei infecții evidențiază: (*a*) *specificitatea* proceselor imune, deoarece organismul devine rezistent strict față de un nou contact cu aceleași microorganisme; (*b*) capacitatea de *memorie imunologică*, care reflectă proprietatea organismului de a reacționa rapid și intens la un nou contact cu antigenul specific.

Contribuția esențială a proceselor imune la apărarea organismului contra infecțiilor microbiene a făcut ca, inițial, imunologia să se dezvolte ca o disciplină al cărui obiect de studiu îl constituia rezistența contra bacteriilor. În această primă perioadă, principalele rezultate au fost obținute în domeniul vaccinărilor, actul de naștere al imunologiei fiind semnat, în 1798, de către Edward Jenner care demonstra posibilitatea vaccinării bovideelor contra virusului variolei. Practic însă, abia în 1880, odată cu realizarea atenuării bacilului holeric aviar de către Louis Pasteur, se precizează caracteristica principală a vaccinurilor, atenuarea virulenței agentului patogen, principiu pe care, în 1932, Gaston Ramon îl extinde la toxinele bacteriene, prin realizarea imunizării cu anatoxine.

În paralel, odată cu descoperirea reacțiilor de aglutinare[2] sau precipitare[3] și a complementului[4], metodele serologice și rolul anticorpilor în imunitate au fost larg dezvoltate. Ele au condus de asemenea la inițierea studiilor de *imunochimie*, care au permis precizarea corelațiilor dintre struc-

---

[1] De la latinescul „immunis": scăpat de, liberat.
[2] 1896, Max Gruber și Herbert Durham.
[3] 1897, Rudolf Kraus.
[4] 1898, Jules Bordet.

tură şi antigenicitate (Karl Landsteiner), cunoaşterea cineticii reacţiilor antigen —anticorp (Michael Heidelberger) şi evidenţierea structurii chimice a moleculei de anticorp (Elvin Kabat, Rodney Porter, Gerald Edelman). Aceste studii au arătat că anticorpii sînt imunoglobuline care pot reacţiona cu antigenele prin situsuri de combinare cu structură complementară celei posedată de molecula de antigen.

Reacţiile imune nu sînt limitate la răspunsul faţă de antigenele microbiene, nu sînt mediate numai prin anticorpi şi nu au întotdeauna efecte favorabile, cum este cel de inducere a rezistenţei la infecţia bacteriană. Astfel, reacţiile tuberculinice (Robert Koch, 1890), cele de şoc anafilactic (Charles Richet, 1902), ca şi boala serului (Clemens Von Pirquet, 1905) au la bază procese de răspuns imun la antigene de variate origini şi cu efecte dăunătoare organismului. Efecte nocive au şi răspunsurile imune exagerate (boli imunoproliferative: limfosarcoame, leucemia limfoidă, macroglobulinemia Waldenström, plasmocitoamele etc.), ca şi deficienţele în răspunsul imun (sindroamele timice Di George şi Nezelof, cel plasmocitar agammaglobulinemic Bruton etc.). Ca rezultat al deficitului de reglare imună au fost descrise şi o serie de boli prin autoimunizare, prin complexe imune etc. S-a recunoscut astfel existenţa unei veritabile *patologii imune*.

În alergia tuberculinică, o reacţie tipică de ,,hipersensibilitate întîrziată'', mecanismele de producere nu implică participarea anticorpilor, ci numai a limfocitelor. Aşa cum au demonstrat Chase şi Landsteiner, transferul acestei hipersensibilităţi de tip întîrziat se poate face la organisme normale prin intermediul limfocitelor, în absenţa anticorpilor. A apărut astfel noţiunea de *imunitate mediată celular*, care — în opoziţie cu *imunitatea umorală* — este independentă de anticorpi. Importanţa particulară a limfocitelor ca celule imunocompetente a fost reliefată după 1959, cînd James Gowans a arătat că unui organism iradiat i se poate restabili capacitatea de răspuns imun şi memoria imunologică prin transfer de limfocite de la un animal normal. La puţin timp după aceasta, Jacques Miller demonstrează rolul timusului în imunologia celulară, iar R.A. Good pe cel al bursei lui Fabricius; concomitent, grupurile de cercetători coordonate de G. Nossal în Australia şi J. Humphrey şi N.A. Mitchison în Anglia demonstrează existenţa a două categorii de limfocite imunologic reactive — T şi B — care corespund, ca origine şi loc de maturare, timusului şi echivalentului bursal la mamifere, măduva osoasă. Aceste descoperiri stau la baza actualei dezvoltări a cunoştinţelor despre *sistemul imun* care — conform unei exprimări sintetice sugestive recente (Eisen, 1976) — conţine un univers dublu : cel al moleculelor de anticorpi şi cel al receptorilor de suprafaţă limfocitari.

A. *Conceptul de sistem imun*

Pătrunderea în organism a unui antigen nu este urmată de eliminarea sa renală sau prin bilă, fecale etc. Folosind metode de marcare adecvate, se poate observa la nivelul diverselor organe (splină, ganglioni limfatici, ficat etc.) reţinerea antigenului în organism timp de mai multe săptămîni după pătrundere. Ulterior, la un nou contact cu acelaşi antigen, la nivelul

aceloraşi organe care au realizat reţinerea antigenului, au loc o serie de reacţii specifice, rapide şi intense, constituind *răspunsul imun*. Acest comportament special al organismelor vertebrate faţă de materialele străine implică existenţa unui *sistem reactiv imunitar*, răspîndit în întregul organism, şi care este capabil să realizeze recunoaşterea şi reţinerea antigenului, urmate de răspunsul specific la un nou contact cu antigenul (Păunescu, 1975).

Orice prezentare, chiar sumară şi foarte generală a proceselor de răspuns imun, trebuie să facă referire la baza morfofuncţională a sistemului imun : *sistemul limfocitar*, cu corolarul său constant, *sistemul mononuclear macrofagic*. Asupra originii şi dezvoltării filo-ontogenetice a acestor sisteme este de asemenea util să se facă menţiune, întrucît sistemul limfocitar, apărut pe scara filogenetică la vertebrate, este capabil să completeze la un nivel mai fin capacitatea de eliminare a non-selfului de către sistemul fagocitar singular. Membrana celulară, la vertebrate şi, în mod particular, la mamifere, poartă un număr mare de receptori pentru molecule complementare, implicaţi în variatele semnale intercelulare. Aceşti receptori, expresie a unui metabolism celular mai complex decît cel de la nivelul celulelor nevertebratelor, asigură un potenţial mult crescut de recunoaştere şi discriminare a substanţelor străine. Multiplicarea şi diversificarea receptorilor de suprafaţă şi dezvoltarea unui sistem celular specializat — sistemul limfocitar — care poartă asemenea receptori şi realizează recunoaşterea şi discriminarea antigenelor, asigură organismelor superioare o capacitate mult mai eficientă de detectare şi eliminare nu numai a agenţilor patogeni externi, ci şi a celulelor anormale (tumorale, de transplantare etc.) ce apar în organism.

Faptul că apariţia sistemului imun este rezultatul unui lung şir de procese evolutive care s-au desfăşurat de-a lungul a numeroase etape filogenetice, precum şi faptul că extraordinara diversitate a anticorpilor şi receptorilor limfocitari de suprafaţă reprezintă expresia a numeroase mutaţii genomice şi somatice, au condus la abordarea unui număr din ce în ce mai mare de aspecte genetice ale proceselor imune, creîndu-se o ramură specială a imunologiei, *imunogenetica*.

Reacţia imunitară faţă de un antigen pătruns în organism este iniţiată de o triadă de celule : macrofagul, limfocitul T şi limfocitul B ; acestea recunosc antigenul, îl fixează şi îl procesionează, rezultanta fiind stimularea, diferenţierea şi proliferarea de clone de celule sensibilizate, care sînt fie din linia B, celule formatoare de anticorpi specifici (plasmocite), fie limfocite T sensibile la antigen. Anticorpii în imunitatea umorală şi limfocitele T sensibilizate în imunitatea celulară sînt elementele efectoare, capabile să reacţioneze specific cu antigenele.

Din reacţia anticorpilor cu antigenul specific rezultă complexe antigen — anticorp, în care antigenul este neutralizat. Asemenea complexe sînt uşor fagocitate şi catabolizate, asigurîndu-se degradarea şi eliminarea din organism a antigenelor. Uneori însă, datorită unor calităţi particulare ale moleculei de anticorp, complexele imune pot declanşa alte tipuri de reacţii, ca rezultat al precipitării lor în vasele mici (reacţii de tip Arthus) sau ca rezultat al fixării pe celule şi lizării acestora. În majoritatea acestor cazuri, reacţiile antigen—anticorp duc la eliberarea de mediatori farmacodinamici (de tipul histaminei), care declanşează procese cu răsunet gene-

ral, în întregul organism (vasodilatare periferică, colaps cardiac etc.). Alteori, complexul antigen — anticorp poate fi recunoscut ca „non-self" de către organism, dînd naştere la anticorpi anti-imunoglobulinici, veritabili autoanticorpi care pot declanşa procese de autoimunitate.

Din reacţia cu antigenul a celulelor T sensibilizate rezultă de obicei distrugerea antigenului, care în cazul imunităţii mediată celular este adesea o celulă „străină" (tumorală, de transplantare, infectată viral etc.). La contactul cu antigenul, limfocitul sensibilizat eliberează mediatori solubili —limfokine —care au proprietăţi farmacologice particulare : pot induce mitoză şi sensibilizare limfocitară, pot activa macrofagele, pot inhiba migrarea leucocitară etc. Asemenea mediatori limfocitari pot dezvolta reacţii de hipersensibilitate de tip tardiv.

Reacţiile de răspuns imun sînt controlate genetic : ele sînt de asemenea reglate prin clasele de anticorpi (IgM, IgG), prin capacitatea macrofagului de a recunoaşte şi procesiona antigenul şi prin potenţialul ajutător al limfocitului T specializat. Există de asemenea o clasă specializată de limfocite T, supresoare, care contribuie nemijlocit la reglarea răspunsului imun.

Capacitatea de răspuns imun poate fi „paralizată" în anumite condiţii. Asemenea „paralizii imunologice" se constată fiziologic (la făt şi nou-născut) sau ca urmare a unei depresii a imunocompetenţei, obţinută : fie prin iradiere sau administrare de *agenţi imunosupresori* (antimetaboliţi, agenţi alkilanţi, metilhidrazină, ser antilimfocitar etc.), fie prin doze mari de antigen. În acest din urmă caz, starea de „paralizie" imunologică este specifică pentru antigenul administrat în doze mari (definit ca *tolerogen*) ; dacă în locul acestuia se administrează în doze mici un alt antigen (*imunogen*), atunci se dezvoltă un răspuns imun faţă de acesta din urmă. Fenomenul este cunoscut sub numele de *toleranţă imunologică* şi este expresia unei inhibiţii specifice, la nivel central, a capacităţii de răspuns imun faţă de un antigen, după un prealabil contact cu acelaşi antigen.

Studiile acumulate în ultimii 15 ani au condus la fundamentarea concepţiei actuale după care procesele imunitare se dezvoltă şi se manifestă la nivelul a două sisteme morfofuncţionale distincte — cel monocitar macrofagic şi cel limfoid — care, în ciuda diferenţierii lor avansate, au totuşi o origine comună, o distribuţie similară în organism şi activităţi desfăşurate într-o interdependenţă continuă.

1 *Sistemul mononuclear fagocitar*

Fagocitele — ca „microfage" şi „macrofage" — au fost pentru prima oară studiate în detaliu de către Metchnikoff, care demonstrează rolul lor important în rezistenţa organismului la infecţii : fagocitele ingeră, omoară şi digeră cele mai multe microorganisme pătrunse în organismele superioare. Studiile iniţiale ale lui Metchnikoff au arătat că infecţiile se pot dezvolta atunci cînd microorganismul invadant fie rezistă la înglobarea sa în fagocit, fie este capabil să supravieţuiască în citoplasma acestuia. La organismul imunizat, fagocitele — şi în particular *macrofagele* — devin capabile să distrugă şi germenii iniţial rezistenţi la procesele fagocitare.

Cercetările lui Metchnikoff au scos în evidenţă o corelaţie strînsă între macrofagele prezente în splină, ganglioni limfatici şi măduva osoasă, pe de o parte, şi cele din ţesutul conjunctiv, pe de altă parte. Se ajunge astfel, pentru prima oară, la recunoaşterea caracterului sistemic al funcţiei fagocitare, celulele componente fiind înglobate în termenul de „sistem macrofagic".

Fagocitele îşi au originea în măduva osoasă, aşa cum au demonstrat studiile de citokinetică efectuate la animale cu inflamaţie cronică, iradiate letal şi apoi supuse transplantului de măduvă osoasă, folosind markeri izotopici, antigenici şi cromosomali. Capacitatea fagocitară nu este expresia activării unor celule locale, ci rezultatul solicitării prin factori locali a unei celule eliberată de măduva osoasă. În pulpa roşie medular-osoasă, dintr-o celulă multipotenţială (celulă-stem), se diferenţiază pe de o parte promonocite (care dau naştere monocitelor), pe de altă parte mieloblaşti (care în final dau naştere polimorfonuclearelor):

Celulă-stem

Monocit ← Promonocit ← | → Mieloblast → Promielocit → Mielocit

Polimorfonuclear ← Metamielocit ←

Monocitele sînt preluate de sînge şi vehiculate în întregul organism, în aşa fel că — la nivelul organului care are condiţii create pentru fagocitare — monocitul sanguin trece în ţesutul respectiv şi devine apt pentru fagocitoză (*macrofag*). Originea medular-osoasă şi filiaţia descrisă au fost bine elucidate pentru histiocitele ţesutului conjunctiv, pentru celulele Kupffer hepatice, pentru macrofagele alveolare, pentru macrofagele libere şi cele fixate din ganglionii limfatici, splină, cavităţile seroase, sistemul nervos şi ţesutul osos (Van Furth şi colab., 1972).

În culturi celulare de măduvă osoasă, stimulate printr-un factor seric produs în stările inflamatorii, s-au evidenţiat treptele de diferenţiere mai sus menţionate, din celula stem către monocit sau către polimorfonuclear (Van Furth, 1970).

Pe baza acestor studii şi ţinînd seama de originea comună a macrofagelor din diferitele organe, o comisie de experţi OMS au propus cuprinderea tuturor acestor celule într-un grup morfofuncţional unic, *sistemul mononuclear fagocitar* (Van Furth şi colab., 1972).

Spre deosebire de polimorfonucleare, care sînt rapid scoase din funcţie după diapedeză în ţesuturi şi procesionarea corpilor străini care le-au solicitat, monocitele persistă mult timp în ţesuturi. Semiviaţa macrofagelor a fost în detaliu studiată la şoarece: ea este de 20—40 zile pentru macrofagele peritoneale, de 50 zile pentru cele alveolare şi de 60 zile pentru celulele Küpffer. La iepure, s-a putut urmări trecerea monocitului sanguin, prin diapedeză, în ţesutul conjunctiv, transformarea lui în macrofag şi persistenţa sa sub această formă timp de 140 de zile.

Morfologia fagocitului mononuclear depinde într-o mare măsură de organul sau ţesutul în care se fixează. Indiferent de aspectul morfologic însă, o serie de caractere funcţionale sînt comune tuturor macrofagelor: (*a*) capacitatea de a recunoaşte substanţe străine („non-self") organismului, de a le fixa la suprafaţă, de a le digera; (*b*) capacitatea de a adera la

suprafețe solide (sticlă, nylon, fibre de bumbac etc.); (*c*) proprietatea de a fixa anticorpi citofili, prin intermediul receptorilor pentru fragmentul Fc al unor molecule de Ig (v. cap. II, E); (*d*) posibilitatea de a coopera cu limfocitele T și B în procesele imune, de a fi „activate" sub acțiunea unor limfokine, de a fagocita complexele antigen — anticorp, a fixa complementul, de a sintetiza anumite componente ale complementului etc. (v. cap. II, C).

Aceste caractere permit gruparea tuturor celulelor macrofage într-un sistem funcțional bine definit. Aceleași caractere comune duc la excluderea din sistemul mononuclear fagocitar a altor celule cu capacități fagocitare relative, dar lipsite de proprietățile de a fixa și purta imunoglobuline și complement, de a exprima hipersensibilitatea întîrziată, de a fi efectori în imunitatea antitumorală etc.: fibroblaștii, celulele reticulare, o serie de celule endoteliale. Dealtfel, pentru acestea din urmă, nici originea nu este comună cu cea a macrofagelor propriu-zise (v. cap. I,D).

2. *Sistemul limfoid*

În ansamblu, sistemul limfoid este constituit din organe limfoide centrale (măduva osoasă și timus, la mamifere) și periferice (splina, ganglionii limfatici, amigdalele și țesutul limfoid al tractului digestiv, ficatul). Țesutul limfoid are însă o repartizare generală, fiind prezent în diferite alte organe sub formă de puncte limfoide, foliculi limfatici simpli sau aglomerați, plăci limfoide etc. Asemenea structuri limfoide se găsesc normal distribuite în țesutul conjunctiv lax al diverselor organe, în corionul submucoaselor etc., și au o frecvență deosebită de-a lungul tractului digestiv, începînd cu orificiul bucofaringian (unde realizează așa-numitul „inel limfatic al lui Waldeyer") (Păunescu, 1975).

Țesutul limfoid este populat cu limfocite de talie mare, mică sau intermediară. Limfocitele mici se găsesc în proporție de 86—91% din masa totală limfocitară sanguină și constituie populația limfocitară imunologic activă, conținînd atît limfocite B, cît și T.

Sub aspect imunologic, limfocitele T și B posedă o serie de caractere funcționale comune: (*a*) sînt inactive în absența antigenului; (*b*) posedă pe suprafața membranei lor celulare receptori pentru antigene; (*c*) sînt radiosensibile; (*d*) după activare prin antigen, ambele intră rapid în cicluri mitotice repetate, care duc la apariția de clone de celule identice și sensibile la antigen; (*e*) preexpunerea la antigen poate altera răspunsul celulelor T și B la restimularea cu același antigen, și anume: fie că populația limfocitară respectivă capătă proprietatea de a răspunde mai rapid la antigen (stare de *memorie imunologică pozitivă*), fie că devine mai slab reactivă (stare de *memorie imunologică negativă*), rezultînd o parțială sau completă *toleranță imunologică*; (*f*) atît în populațiile T, cît și în cele B, celulele individuale sînt eterogene în ceea ce privește specificitatea receptorilor lor la suprafață (Păunescu, 1975).

Ca și pentru macrofage, originea celulelor limfoide este măduva osoasă, unde o celulă-stem multipotențială poate evolua și diferenția către limfocit. Această diferențiere poate începe în măduva osoasă, dar ea se continuă și se desăvîrșește, extramedular, în alte organe, ca timusul,

țesutul limfoid al tractului intestinal, splină, ganglioni limfatici etc. În funcție de anumiți factori locali („hormoni" limfoido-diferențiatori), celula-stem diferențiază către una din cele două linii principale limfocitare : *limfocitele T*, diferențiate în timus (v. cap. II, A), și *limfocitele B*, diferențiate direct în măduva osoasă și maturate extramedular (v. cap. II, B.).

Studii privind sistemul limfoid, realizate comparativ la animale normale și la animale timectomizate, ca și studiile asupra modificărilor morfologice ce însoțesc imunitatea mediată celular (v. cap. III, C), și imunitatea umorală (v. cap. III, A) au demonstrat că organele periferice posedă, în structura lor, arii timus-dependente și timus-independente. *Zonele timus-dependente* includ ariile paracorticale din ganglionii limfatici (v. cap. III, C), mantaua limfoidă periarterială din pulpa albă splenică și ariile inter- și suprafoliculare din plăcile Peyer. *Zonele timus-independente* cuprind foliculii cortexului extern al ganglionilor limfatici și al plăcilor Peyer, ca și foliculii limfatici ai ariilor periferice din pulpa albă splenică. În alte zone, cum sînt regiunile marginale ale pulpei roșii splenice și medulara ganglionilor limfatici, prezența limfocitelor B este dominantă, însă are loc și o intensă circulație de celule T și B, astfel că aceste teritorii sînt considerate „mixte", atît dependente, cît și independente de timus.

Această remarcabilă afinitate diferențiată a limfocitelor T și B pentru anumite zone din organele limfoide periferice (proprietate denumită „*ecotaxie*") (De Sousa, 1973) nu este încă bine explicată. Prin inocularea la organisme singeneice de limfocite radiomarcate, s-a observat că limfocitele din canalul toracic, ca și cele timice circulante, migrează preferențial către zonele timus-dependente. Celulele splenice, care cuprind atît celule T, cît și B, prezintă afinități corespunzătoare, fie pentru ariile timus-dependente, fie pentru cele timus-independente. Limfocitele din ganglionii limfatici migrează dominant, dar nu în totalitate, în ariile timus-dependente ; limfocitele din măduva osoasă migrează în schimb în zonele timus-independente (iar celulele medulare nediferențiate, ca și cele mieloide, migrează înapoi în măduva osoasă) (De Sousa, 1973).

La fenomenul de *ecotaxie* pare să contribuie un număr mare de mecanisme ; dintre acestea, intervenția receptorilor de membrană pare să dețină un rol important, deoarece afinitatea specială a acestor receptori poate explica aderența selectivă a celulelor B, timus-independente, pentru anumite zone, care nu pot reține în schimb celulele T, lipsite de receptori imunoglobulinici și deci mult mai mobile. În acest sens pledează și faptul că distrugerea receptorilor de suprafață (prin tratare cu neuramidază sau tripsină) împiedică migrarea normală a limfocitelor ; ulterior, prin reincubare la 37°C, limfocitele pot sintetiza noi receptori de suprafață, ceea ce face ca inocularea lor la organisme singeneice să asigure migrarea și localizarea normală. Printre receptorii de suprafață care contribuie la procesul de ecotaxie a limfocitului B sînt și cei pentru componentul 3 al complementului (C3) ; acesta permite o agregare a celulelor B în foliculi. Fenomenul de ecotaxie contribuie deci la organizarea sistemului limfoid periferic.

2—c. 825 19

B. *Dezvoltarea filogenetică și ontogenetică a sistemului imun*

Capacitatea de răspuns imun a unui organism este nemijlocit legată de coexistenţa a două tipuri de celule, fagocitele şi limfocitele. Sub aspect filogenetic, cele două tipuri de celule se dezvoltă în etape diferite : în timp ce funcţia fagocitară apare încă de la unicelulare, ţesutul limfoid se diferenţiază mult mai tîrziu, la vertebrate.

La unicelulare şi la metazoarele inferioare, fagocitoza este o funcţie esenţial digestivă, pentru ca ulterior, la nevertebratele mai evoluate, funcţia digestivă să se separe de cea fagocitară. Aceasta din urmă persistă la organismele superioare, diferenţiindu-se şi specializîndu-se foarte mult. Ea devine calitatea unor celule bine definite — microfage şi macrofage — care intervin pentru degradarea şi eliminarea materialului nepropriu organismului, pătruns din afară (bacterii, virusuri etc.) sau rezultat din procesele interne de degradare (celule uzate, detritusuri etc.). La vertebratele superioare, fagocitarea materialului străin are loc cu mare eficienţă datorită atît participării la acest proces a opsoninelor, anticorpi specializaţi, cît şi a „activării" fagocitelor prin mediatori limfocitari.

Apariţia sistemului limfoid vine să completeze, să asigure o mai mare fineţe proceselor de recunoaştere, de distrugere şi de eliminare a agenţilor străini prin intermediul macrofagelor (Fischer, 1976). Datorită apariţiei sistemului limfoid, imunitatea la vertebrate nu mai este dominant specifică de specie (ca la nevertebrate), ci devine individuală ; totodată, organismele devin capabile să diferenţieze şi să memorizeze informaţia antigenică şi să răspundă la stimulul antigenic prin sinteză de imunoglobuline — anticorpi şi de celule sensibilizate efectoare (Păunescu, 1975).

Sistemul limfoid apare pe scara filogenetică la vertebrate. Există unele aspecte funcţionale legate de sistemul limfoid — cum sînt recunoaşterea alogenică şi eliminarea alogrefelor — care se întîlnesc şi la unele nevertebrate diploblastice primitive. În general însă, aşa cum atestă studiile de imunitate comparată privind, spre exemplu, memoria imunologică specifică, specificitatea răspunsului imun şi caracterele de ansamblu ale sistemului imun sînt asociate cu prezenţa celulelor de tip limfoid.

Astfel, spre exemplu, la prevertebratele de tipul ciclostomienilor (*Eptatretus stoutii*), care sînt lipsite de celule limfoide, nu este prezentă capacitatea de a dezvolta hipersensibilitate la BCG, de a diferenţia autogrefele de alogrefe şi nici de a elabora anticorpi ca urmare a stimulului antigenic. Printre ciclostomieni, o excepţie interesantă o constituie *Petrozymon marinus*, care este capabil să producă anticorpi, să rejecteze alogrefe şi să dezvolte hipersensibilitate întîrziată ; la această specie a fost identificat şi un sistem limfoid rudimentar : o protosplină, un ţesut specializat de tipul măduvei osoase şi limfociţi circulanţi.

Peştii holosteeni, elasmobranhiaţii şi teleosteenii prezintă atît ţesut limfoid, cît şi capacitatea de a dezvolta toate tipurile de răspuns imun în care nu intervine sistemul complement. Anticorpii circulanţi sînt de tip 19S, care — mai timpurii decît cei 7S (IgG) — au şi o specificitate mai limitată. Sistemul complement este absent la holosteeni şi elasmobran-

hiaţi; apare însă la teleosteeni, organisme mai avansate pe scara animală.

Batracienii şi reptilele prezintă un ţesut limfoid bine dezvoltat, cu formaţiuni limfoide asemănătoare timusului, splinei şi ganglionilor limfatici. Aceste organisme au capacitatea de a produce atît anticorpi IgM (19S), cît şi IgG (7S), elimină alogrefele şi manifestă memorie imunologică. Pentru prima oară pe scara filogenetică la reptile apar lanţuri L *kappa* şi *lambda* (Păunescu, 1975).

La păsări şi mamifere, sistemul imun este complet dezvoltat. Limfocitele la aceste organisme grupează populaţii distincte — T şi B — cu organe specializate pentru maturare (timusul şi echivalentul bursal), cu localizări diferenţiate în organele limfoide periferice. Cele două populaţii limfocitare se disting morfofuncţional: imunofluorescenţa detectează molecule de Ig numai la suprafaţa celulelor B, în timp ce celulele T prezintă markeri Thy I specifici de suprafaţă, răspund proliferativ în culturi limfocitare amestecate (MLC) şi la anumiţi mitogeni (PHA, Con A); limfocitele B răspund proliferativ sau prin sinteză de Ig la stimulul cu mitogeni timus-independenţi (lipopolizaharidul sau endotoxina 0, sulfat de dextran, flagelina). Fiecare populaţie T sau B cuprinde mai multe subpopulaţii, identificabile prin markeri de suprafaţă (Lyt, 1, 2, 3 pentru celula T, Lyt 4 sau anumite izotipuri de Ig pentru celula B, la şoarece) (v. cap. II, A).

Clasele de Ig — anticorpi sînt mai diversificate la mamifere decît la păsări, ultimele fiind lipsite de IgD şi IgE. IgA apare prima oară la păsări.

Evoluţia moleculelor de Ig prezintă filogenetic un interes particular, deoarece — prin studiile care au relevat omologii de secvenţă a aminoacizilor în structura moleculelor de Ig de origini foarte variate — s-a putut formula ipoteza existenţei unei gene primordiale din care s-au diversificat ulterior numeroase molecule de Ig, ca urmare a unor duplicări genice seriale (v. cap. II, E).

Din studiile de imunitate comparată şi din cele efectuate pe indivizi poliploizi induşi artificial (Du Pasquier, 1976) au rezultat o serie de precizări privind apariţia şi dezvoltarea diferitelor componente ale sistemului imun:

1) Moleculele de IgM apar, pe scara filogenetică, la o foarte primitivă clasă de vertebrate, *Agnatha*, sub formă de lanţuri μ, fiind lipsite de lanţuri L şi de legături disulfurice între lanţuri. La peştii *Chondrichthyes* şi *Actinopterygi*, în sîngele circulant se găsesc unităţi monomere de IgM, în timp ce unii actinopterigieni posedă molecule tetramere, iar *Xenopus* are hexameri; *Chondrichthyes*, *Dipnoi*, majoritatea amfibienilor, *Reptilia* şi *Aves* au molecule de IgM pentamere, ca şi mamiferele. Reptilele sînt primele vertebrate ce conţin două tipuri distincte (*kappa* şi *lambda*) de lanţuri L.

2) Moleculele de IgG apar, sub o formă primitivă, la sarcopterigieni, care conţin molecule de Ig formate dintr-un lanţ tipic L şi un lanţ H cu G.M. = 38 000, denumit „nu"; molecula întreagă este denumită IgN şi mai este prezentă la reptile, păsări şi unele mamifere. La broască, molecula de Ig 7S este lipsită de ramuri la lanţul H (G.M. = 64 000), care este diferit de lanţurile „nu" şi γ, fiind mai apropiat de lanţurile α şi δ. Un lanţ H similar a fost identificat şi la păsări, dar compoziţia sa în ami-

noacizi se apropie de cea a lanţului γ. Lanţul γ (G.M. = 50 000) se observă la reptilele terapside şi la mamiferele euteriene, proteriene şi metateriene.

3) Diferenţierea celulelor T, caracterizată prin participarea la respingerea grefelor şi răspuns proliferativ la PHA, pare să apară la *Protochordata* şi ele sînt evidenţiabile la ciclostomieni, chiar în absenţa timusului. Aceste limfocite T primitive sînt însă capabile să producă şi anticorpi, ceea ce semnifică o lipsă de specializare reală. Dealtfel, o situaţie similară se observă şi la alte nevertebrate, elasmobranhiatele, care posedă timus şi splină, dar prezintă plasmocite şi în timus.

Specializarea efectivă a limfocitelor se observă abia la teleosteeni (păstrăv), unde celulele timice răspund exclusiv la Con A şi PHA, limfocitele renale numai la endotoxină, iar cele splenice la ambele tipuri de mitogeni. Timectomia neonatală duce la incapacitatea de a respinge alogrefele. La aceste organisme s-a observat efect de purtător la răspunsul anticorpic faţă de haptene, ceea ce demonstrează existenţa unei cooperări T — B. Totuşi, la păstrăv, toate tipurile de limfocite reacţionează pozitiv la seruri anti-Ig fluorescente, ceea ce demonstrează — la acest nivel al filogenezei — o distincţie T — B însă incompletă.

La amfibienii adulţi însă, are loc şi diferenţierea receptorilor de suprafaţă T — B, în sensul că serul imun anti-Ig fluorescent reacţionează numai cu limfocitele netimice (timocitele larvelor de broască, în schimb, fixează serul anti-Ig în proporţie de 90%).

Evoluţia ontogenetică a elementelor sistemului imun repetă principalele momente ale dezvoltării filogenetice. În dezvoltarea oricărui embrion există o fază iniţială de imaturitate imunologică, concretizată prin incapacitatea de a răspunde specific la antigen, şi care corespunde fazelor în care ţesutul limfoid încă nu s-a dezvoltat sau nu s-a maturizat.

În evoluţia ontogenetică a sistemului imun, o etapă decisivă o constituie dezvoltarea măduvei osoase şi a timusului. Potenţialul imunologic este fixat în celulele-stem, nediferenţiate, care apar în primele insule de medulară osoasă ale embrionului. Asemenea celule-stem multipotenţiale, ajunse la nivelul nucleului timic, suferă o stimulare specifică, ce are drept urmare diferenţierea timocitelor, precursorii limfocitelor T; ulterior, aceste celule timice părăsesc timusul, intră în circulaţia generală şi — la nivelul ariilor timo-dependente din organele limfoide periferice — îşi desăvîrşesc maturarea şi devin apte să reacţioneze la stimulul antigenic, în cooperare cu macrofagele şi celulele B („bursale") (v. cap. II, A).

O secvenţă asemănătoare se poate observa în cazul limfocitelor B. La mamifere, acestea se diferenţiază din celule-stem direct în măduva osoasă, de unde sînt trecute în circulaţie şi în organele limfatice periferice; aici, la nivelul ariilor timus-independente, aceste celule sînt reţinute şi fixate, maturîndu-se sub influenţa factorilor locali (v. cap. II, B).

Dezvoltarea organelor limfoide are loc concomitent cu popularea lor cu limfocite B şi T.

Perioada dezvoltării limfoide la mamifere se termină de obicei la naştere sau în perioada imediat următoare, şi corespunde intervalului de areactivitate imunologică, însoţită de posibilitatea instalării *toleranţei imunologice* de lungă durată faţă de antigenele cu care embrionul a venit în contact.

C. *Sistemul imun ca sistem funcţional integrat*

Limfocitele şi macrofagele participă nemijlocit la reacţiile de recunoaştere şi răspuns la antigen. Stadiul actual al cercetărilor în acest domeniu permite explicarea unui număr remarcabil de mecanisme şi procese imune. Acesta este rezultatul unui efort comun al imunobiologilor, imunochimiştilor, imunopatologilor şi imunogeneticienilor, care au izbutit disecarea, la nivel celular şi molecular, a implicaţiilor interacţiunilor dintre subpopulaţiile de limfocite.

Interacţiunile limfocitare implică şi recunoaşterea specifică a unui limfocit de către altul, iar asemenea „recunoaşteri" pot fi mediate de receptori de suprafaţă similari cu cei care „recunosc" şi reacţionează cu antigenele. Diversitatea acestor receptori permite să gîndim că fiecare receptor individual va putea descoperi structuri complementare pe un alt limfocit. Acesta este, în esenţă, postulatul de la care pleacă „teoria reţelei" descrisă de Jerne (1976) şi care consideră sistemul imun ca o reţea integrată de interacţiuni limfocitare. Teoria reţelei este o generalizare a „teoriei selecţiei clonale" (Burnet, 1959), şi ambele teorii tind să realizeze integrarea datelor biochimice celulare actuale într-un nivel mai înalt, biologic. Aceste teorii caută să integreze elementele participante la răspunsul imun în concepte mai largi, care să descrie dezvoltarea, organizarea şi funcţionarea sistemului imun ca un întreg.

1. *Teoria selecţiei clonale*

În 1955, Niels Jerne enunţă postulatul selecţiei naturale aplicabil la procesul de producere a anticorpilor. Conform acestei ipoteze, în cursul vieţii embrionare, s-ar produce, prin diversificare, circa 10^6 tipuri diferite de molecule de anticorpi, dintre care toate cele capabile să reacţioneze cu autoantigenele ar fi eliminate, rămînînd după naştere numai anticorpi preformaţi capabili să reacţioneze cu antigenele străine („non-self"). Antigenele întîlnite după naştere s-ar combina selectiv cu anticorpii preexistenţi, complexele formate ar fi fagocitate, iar endocitarea Ig pe această cale ar constitui un semnal pentru sinteza de molecule Ig identice. Conform acestei teorii, memoria imunologică ar fi legată de prezenţa anticorpilor în ser ; or, datele experimentale au indicat că memoria imunologică este localizată la nivel celular.

Burnet (1959) dezvoltă ipoteza lui Jerne, postulînd localizarea celulară a proceselor anamnestice. Această teorie a „selecţiei clonale" în cazul imunităţii dobîndite permite explicarea răspunsului anamnestic, creşterea afinităţii în cursul imunizării, existenţa anticorpilor „naturali" şi fenomenele de toleranţă imunologică.

Conform teoriei selecţiei clonale, fiecare limfocit din fondul de bază al acestei populaţii conţine la suprafaţa membranei sale citoplasmice un receptor Ig care poate reacţiona cu un anumit antigen ; din asemenea reacţii, limfocitul stimulat de antigenul faţă de care are o structură com-

plementară răspunde proliferativ și dă naștere la *clone* (familii) *de limfocite* identice, capabile să reacționeze cu același antigen și să producă anticorpi specifici față de acesta. În această reacție antigenul are rol de stimulator selectiv, iar produsul reacției (clona) asigură „memoria imunologică" pentru antigenul stimulator. Limfocitele capabile să inducă *clone* de celule formatoare de anticorpi față de autoantigene sînt *„interzise"* prin eliminarea lor în cursul perioadei fetale.

O serie numeroasă de date experimentale sînt *în favoarea teoriei selecției clonale*. Astfel, spre exemplu, în interiorul celulelor formatoare de anticorpi nu au fost puse în evidență molecule de antigen (așa cum postula Jerne și alți autori); în schimb, contactul dintre antigen și suprafața limfocitului corespunzător duce la diferențierea acestuia din urmă în celulă producătoare de anticorpi.

Structura primară a moleculei de Ig, adică secvența aminoacizilor în lanțurile polipeptidice, corespunde informației genetice conținută în DNA genomic și nu este influențată de antigen. Răspunsul imun este controlat genetic, prin gene strîns legate de cele ce codifică antigenele de transplantare (v. cap. I, E). Aceasta înseamnă că nu este posibil că se ia în considerație existența unor gene separate pentru fiecare determinant antigenic și, implicit, devine obligator să admitem diversificarea informației de bază prin mutații germinale și/sau somatice (v. cap. II, E).

În sensul diversității accentuate a receptorilor pentru antigen situați pe suprafața limfocitelor, datele experimentale — folosind metode autoradiografice, de rozetare etc. — au pus în evidență faptul că 1—2 limfocite din 1 000 limfocite de la un organism neimunizat pot lega spontan un anumit antigen (albumină serică bovină sau hematii de oaie, în cazul speciei umane). După imunizare, numărul de celule ce pot lega antigenul crește mult (10^5), iar clonele astfel selectate produc anticorpi de mare afinitate pentru antigen.

Transferul pasiv de anticorpi duce la o inhibiție a stimulării limfocitelor gazdei prin antigenul specific; acest fenomen de „feed-back" poate fi explicat prin competiția pentru antigen dintre anticorpii transferați și receptorii antigen-sensibili ai limfocitelor gazdei.

Starea de toleranță imunologică este de asemenea explicabilă în cadrul teoriei selecției clonale printr-o blocare a răspunsului clonal la antigen ca urmare fie a reducerii numărului de celule imunocompetente (iradiere, tratament imunodepresiv etc.), fie a neutralizării capacității de răspuns a limfocitelor (imunotoleranță prin doze mari de antigen).

Există însă și unele date experimentale care sînt *împotriva teoriei selecției clonale*. Acesta este cazul, spre exemplu, al experiențelor care au arătat, cel puțin la șoarece, existența unui mic procent de limfocite care pot produce, simultan, anticorpi specifici pentru două antigene distincte. Această constatare contravine regulei de bază a teoriei selecției clonale, care presupune „o celulă, un tip de anticorp". În același sens trebuie considerată și constatarea lui Cunningham care — prin tehnica diluțiilor de celule — observă o anumită eterogenitate a specificității anticorpilor produși de celulele unei clone unice de plasmocite.

De asemenea, observația lui Avrameas că un același plasmocit poate produce simultan atît Ig anticorp, cît și molecule de Ig fără specificitate pentru antigen, contravine principiilor de bază ale teoriei lui Burnet.

În sfîrșit, experiențele de reasociere a lanțurilor L și H, disociate în prealabil din molecule IgG distincte (Bach, 1978) au demonstrat că există un grad marcat de reasociere preferențială dependent de structura primară a regiunilor V și nu de originea lanțurilor L și H. Această constatare presupune că lanțurile H și L au făcut obiectul unei preselecții și, dacă admitem — conform teoriei selecției clonale — că o astfel de preselecție este independentă de antigen, atunci vom presupune că limfocitele sînt multipotențiale în momentul selectării lanțurilor lor de Ig. În plus, asemenea rezultate experimentale sugerează că *n* gene V_H și *p* gene V_L nu vor putea conduce la producerea de *np* tipuri de anticorp, deoarece trebuie să acceptăm o selecție preferențială a asociațiilor H — L.

Dealtfel, în ansamblu, bazele genetice ale teoriei selecției clonale încă nu au fost satisfăcător elucidate (v. cap. II, E) și ele constituie încă subiecte de discuție și investigație.

2. *Teoria rețelei*

După cum s-a constatat, o clonă de limfocite constă din circa 10^5 celule (în diferite stadii de dezvoltare), care toate produc molecule de anticorpi ce prezintă aceleași situsuri de combinare și aceiași determinanți idiotipici (v. cap. II, E—1). Această clonă conține de asemenea și anticorpi liberi, precum și alți factori pe care celulele acestei clone îi pot secreta. Conform estimărilor teoriei selecției clonale, putem spune că sistemul imun conține 10^7 asemenea clone, care pot reacționa — față de antigenul corespunzător — prin proliferare celulară, secreție de anticorpi sau toleranță, în funcție de mecanismele de reglare ce operează la nivelul fiecărei clone.

Conform „teoriei rețelei", elaborată relativ recent de către N.K. Jerne (1971, 1976), sistemul imun este conceput ca o rețea de circa 10^7 elemente, fiecare element corespunzînd unei clone de 10^5 celule imun angajate și care interacționează între ele prin reacții între idiotipuri și receptorii idiotipici.

Conceptul elaborat de Jerne pornește de la faptul că fiecare moleculă de anticorp posedă, pe lîngă situsul de combinare cu antigenul, și un determinant antigenic propriu, definit pe lanțul H, ca urmare a structurării situsului de combinare (idiotip). Față de acest determinant antigenic va trebui să se găsească în organism cel puțin un limfocit (o clonă) care să aibă pe membrana de suprafață receptori complementari, aceștia acționînd ca *anticorp anti-idiotipic*.

În ansamblu, cum fiecare clonă de limfocite va avea un idiotip comun, pentru care o altă clonă va poseda un situs de combinare specific (anticorp anti-idiotip), rezultă că sistemul imun poate fi considerat ca un ansamblu de circa 10^7 clone limfocitare care interacționează la nivelul idiotipurilor și anti-idiotipurilor ce le posedă : fiecare membru al setului de 10^7 situsuri de combinare va recunoaște cîțiva membri ai setului de 10^7 idiotipuri *din același sistem imun*, iar fiecare membru al setului de 10^7 idiotipuri va fi recunoscut de cîțiva membri ai setului de 10^7 situsuri de combinare (Jerne, 1976). Sistemul imun apare astfel *ca o rețea de antigen și anticorpi proprii*, în care antigenele străine intervin numai inciden-

tal. Sistemul imun funcţionează ca o reţea de clone în interacţiune chiar în absenţa antigenului propriu-zis („non-self").

Există în prezent o serie de date care sprijină teoria reţelei. Printre acestea trebuie amintit în primul rînd faptul că a fost demonstrată existenţa de reacţii ale limfocitelor atît B, cît şi T la idiotipuri ale propriilor molecule de Ig (Wigzell, 1976). De asemenea, s-a relevat că administrarea (sau producerea) de anticorpi anti-idiotipici suprimă sau stimulează limfocitele T şi/sau B care posedă idiotipul corespunzător. Celulele T care reacţionează anti-idiotip sînt capabile să suprime producerea de anticorpi ce poartă idiotipul corespunzător. Această capacitate supresoare a limfocitelor T cu activitate anti-idiotipică poate fi transferată la un organism normal prin limfocitele T provenite de la organismul singeneic supresat (Jerne, 1976).

Scopul mărturisit al teoriei reţelei este acela de a realiza *o descriere integrată a sistemului imun.* În felul acesta devine însă necesar să se concretizeze la detaliu posibilele interacţiuni dintre clonele componente ale reţelei, ceea ce ridică însă obstacole deosebit de serioase datorită numărului foarte mare şi variat de componenţi prezenţi în fiecare clonă (subpopulaţii T şi B, macrofage, anticorpi liberi, limfokine, monokine, componentele complementului etc.). Au fost propuse cîteva modele matematice privind interacţiunile esenţiale dintre elementele reţelei imune (Richter la Göttingen, Hoffman la Basel, Adam şi Weiler la Konstanz) (v. Jerne, 1976), dar nici unul nu satisface încă în privinţa cuprinderii suficiente a complexităţii interacţiunilor, a prognozei sensului reacţiilor în variate situaţii şi a posibilităţilor de verificare experimentală.

Rezultă însă că, dacă conceptul selecţiei clonale a căutat să cuprindă şi să explice variatele posibilităţi de reacţie ale sistemului imun faţă de antigenele „non-self", teoria reţelei îşi propune să înglobeze în plus variatele interrelaţii dintre elementele care participă la răspunsul imun.

D. *Sistemul imun şi sistemul reticulo-histiocitar*

După ce Metchnikoff a realizat studiul de ansamblu, morfofuncţional, al fagocitelor şi a evidenţiat caracterul sistemic al funcţiei fagocitare la organismele superioare, în 1924, Aschoff grupează împreună toate celulele care prezentau funcţie fagocitară, indiferent de originea şi morfologia lor. Apare astfel noţiunea de „sistem reticuloendotelial", care — după definiţia lui Aschoff — corespunde complexului de „celule mezenchimale, fixe sau mobile, răspîndite în întregul organism, capabile să capteze într-o măsură mai mare sau mai mică particule coloidale injectate".

Proprietatea de coloidopexie a devenit, pentru mulţi cercetători, un fenomen identic sau strîns legat de fagocitoză (Berceanu şi colab., 1967). Evaluarea capacităţii de a endocita particule străine se realizează prin măsurarea ratei de eliminare din sînge a particulelor de carbon sau de substanţe coloide radioactive. Această metodă, introdusă de Biozzi,

Benacerraf şi Halpern (Van Furth, 1975), constă din inocularea intravenoasă a unei suspensii de particule de cărbune şi prelevarea de probe de sînge la intervale regulate. Fotocolorimetrarea probelor de sînge colectate permite estimarea conţinutului de cărbune în sînge şi devine astfel posibil să se calculeze un indice fagocitar K:

$$K = (\log\ C_0 - \log\ C_t) \cdot \frac{1}{t}$$

unde C_0 şi C_t reprezintă concentraţiile cărbunelui la diferite intervale de timp. Eliminarea cărbunelui din sînge are loc într-o rată exponenţială. Indicele fagocitar K trebuie însă corectat în funcţie de vîrsta organismului (O = greutatea animalului), de reacţiile hepatice (H = greutatea ficatului) şi ale splinei (S = greutatea splinei), care suferă modificări importante în cazul tratamentelor imunostimulante sau al unor altor afecţiuni proliferante. Indicele fagocitar corectat I devine astfel:

$$I = \sqrt[3]{K} \cdot O \cdot \frac{1}{H+S}$$

Metoda Biozzi realizează estimarea capacităţii de endocitare a celulelor fagocitare şi permite aprecierea funcţionalităţii *sistemului reticuloendotelial ca unitate coloidopexică*.

Această metodă nu dă informaţii asupra eficienţei sistemului, respectiv asupra capacităţii sale de a distruge materialul fagocitat. Pentru obţinerea unor astfel de informaţii se utilizează inocularea intravenoasă de suspensii bacteriene uşor endocitabile şi insensibile la factorii serici bactericizi (lizozim, factor Hirsch etc.). După administrarea acestei suspensii, se observă — ca şi în cazul particulelor de cărbune — că în două ore circa 90% din bacterii dispar din ser şi pot fi regăsite în splină şi ficat. Din aceste organe pot fi prelevate probe şi se pot urmări numărul de bacterii fagocitate, numărul de germeni viabili etc. Se obţin astfel preţioase informaţii asupra eventualelor modificări ale *capacităţii* pexice şi *bactericide* a organelor respective ca urmare a imunizării generale sau specifice, a tratamentelor imunodepresoare, a instalării toleranţei imunologice etc.

Între capacitatea coloidopexică şi cea bactericidă a elementelor sistemului reticuloendotelial se pot evidenţia diferenţe importante. Astfel, tipurile de celule capabile de endocitare a particulelor inerte este mult mai mare decît cel al celulelor ce endocitează bacterii. Din prima categorie, aceea a celulelor cu potenţial endocitar, fac parte şi fibroblaştii, celulele reticulare şi celulele endoteliale, care pot ingera particule inerte, dar nu le pot digera, fiind dealtfel lipsite de potenţial bactericid. Includerea acestor celule cu capacităţi strict endocitare printre elementele sistemului reticuloendotelial a fost promovată de către Thomas, în 1949, care considera că în conceptul de „sistem reticulohistiocitar" (termen propus încă din 1927 de către Volterra) trebuie cuprinse toate celulele care, la un moment dat, pot dobîndi o „stare histiocitară", devenind capabile să se deplaseze şi să efectueze o funcţie endocitară. În felul acesta, alături de histiocitele ţesutului conjunctiv, printre celulele potenţial histiocitare ar trebui cuprinse şi celule din muşchii striaţi şi netezi, din măduvă, celulele Schwann, epi-

teliale etc. În perioada cît nu se află în „stare histiocitară", aceste celule ar fi stabile, fixe. Altfel spus, histiocitul activ (sau orice celulă în „stare histiocitară") ar proveni din histiocite fixe sau din celule reticulare, prin activare. Alături de capacitatea de endocitare, asemenea celule vor prezenta o mobilitate potențială și un turnover marcat al sintezei proteice, proces esențial pentru proliferare și creștere.

Studii mai recente, în special de ordin histochimic și de microscopie electronică, au arătat însă în cazul macrofagelor histioide tipice (alveolare, peritoneale, ganglionare) că sinteza proteică este redusă, iar capacitatea de multiplicare de asemenea (frecvența mitozei : 0,2—2,5 %). O activitate mitotică deosebit de marcată prezintă în schimb promonocitele din măduva osoasă, dintre care 50 pînă la 70 % sintetizează DNA (Păunescu, 1975). În plus, macrofagele propriu-zise dețin nu numai capacități endocitare marcate, ci și potențial bactericid. Ele răspund de asemenea prin procese de „activare" metabolică și creștere a eficienței bactericide ca urmare a stimulării prin limfokine (v. cap. II, A și C) și posedă pe membrana de suprafață receptori pentru fragmentul Fc al IgG și pentru complement (v. cap. II, C).

S-a ajuns astfel la concluzia că macrofagele histioide nu au o origine locală și nu reprezintă o „stare histiocitară" a unor celule mobilizate din parenchimul local. Această concluzie a fost dealtfel verificată experimental, prin studii care au arătat că macrofagele, ca și microfagele, au o origine centrală, în măduva osoasă, de unde sînt eliberate ca mononucleare și, prin circulație, ajung la nivelul diferitelor organe periferice, unde sînt cantonate (v. cap. I, A—1). S-a creeat astfel conceptul de „sistem mononuclear fagocitar", care din punct de vedere imunologic constituie o entitate bine definită ca funcționalitate specifică.

O situație particulară, în conceptul inițial de sistem reticulohistiocitar reanalizat în lumina datelor actuale, o deține și limfocitul. Acesta era considerat de Rubuck (citat de Berceanu și colab., 1967), încă în 1964, drept celula regeneratoare de elemente histioide și limfoblastice, revenind la concepția lui Maximov, care privea acest element drept o rezervă permanentă de hemocitoblaști. Astăzi se știe că limfocitul deține rolul cheie de celulă imunocompetentă, că are o origine centrală, în măduva osoasă (limfocit B) și în timus (limfocit T), că nu generează hemocitoblaști, că interacționează cu macrofagul la recunoașterea antigenelor și la „activarea" proceselor efectoare imunitare etc. (v. cap. II, A și B).

Berceanu și colab. (1967) reiau problematica legată de conceptul de sistem reticuloendotelial (SRE) în lumina datelor actuale în acea perioadă și — pe baza rezultatelor experimentale și a unei bogate cazuistici clinice (peste 800 de cazuri leucoze și reticuloze maligne) — ajung la concluzia că SRE trebuie considerat ca un sistem dinamic, în continuă transformare, la a cărui structurare contribuie două tipuri de elemente : *(a)* unele provenite dintr-o celulă multipotențială, centrală *(prezentă la adult în măduva osoasă)*, care constituie sursa elementelor active din SRE (limfocite, macrofage); *(b)* altele, *dezvoltate local*, din mezenchimul inițial, și care rețin la nivelul organelor periferice elementele dezvoltate din celula multipotențială. Astăzi se cunoaște că elementele locale din structura SRE nu au numai o influență mecanică, ci și una funcțională, ele realizînd o amprentă finală în cadrul procesului de maturare a populațiilor limfoci-

tare şi mononuclear fagocitare originate central şi localizate în diferitele zone periferice ale sistemului reticuloendotelial.

Sub aspect imunologic, referirile diferenţiate la ,,sistemul limfocitar'' şi ,,sistemul mononuclear fagocitar'' sînt satisfăcătoare şi suficient de cuprinzătoare. Sub aspect hematologic (Berceanu, 1977) şi pentru numeroase aspecte de patologie clinică, utilizarea termenului de ,,sistem reticuloendotelial'', continuă să fie profitabilă.

E. *Sistemul imun şi complexul major de histocompatibilitate*

Complexul major de histocompatibilitate (MHC[5]) corespunde unei serii de gene legate care controlează atît sinteza antigenelor de histocompatibilitate, cît şi un număr important de funcţii imunologice, cum sînt : respingerea grefelor, răspunsul imun la antigen, interacţiunile limfocit T — limfocit B — macrofag, rezistenţa la anumiţi agenţi infecţioşi, imunitatea antitumorală şi sinteza unor componente ale sistemului complement[6] MHC este prezent la toate speciile superioare : peştii teleosteeni, batracieni, reptile, păsări şi mamifere ; la acestea din urmă, MHC prezintă o complexitate maximă (Du Pasquier, 1976). În general, la toate vertebratele şi în particular la mamifere, funcţiile MHC sînt similare, deşi ordinea şi localizarea genelor pot varia.

Cele mai intensive studii asupra MHC au fost realizate la şoarece şi la om. La amîndouă speciile, funcţiile MHC sînt de acelaşi tip ; diferă însă ordinea de amplasare a genelor ce controlează aceste funcţii (fig. 1).

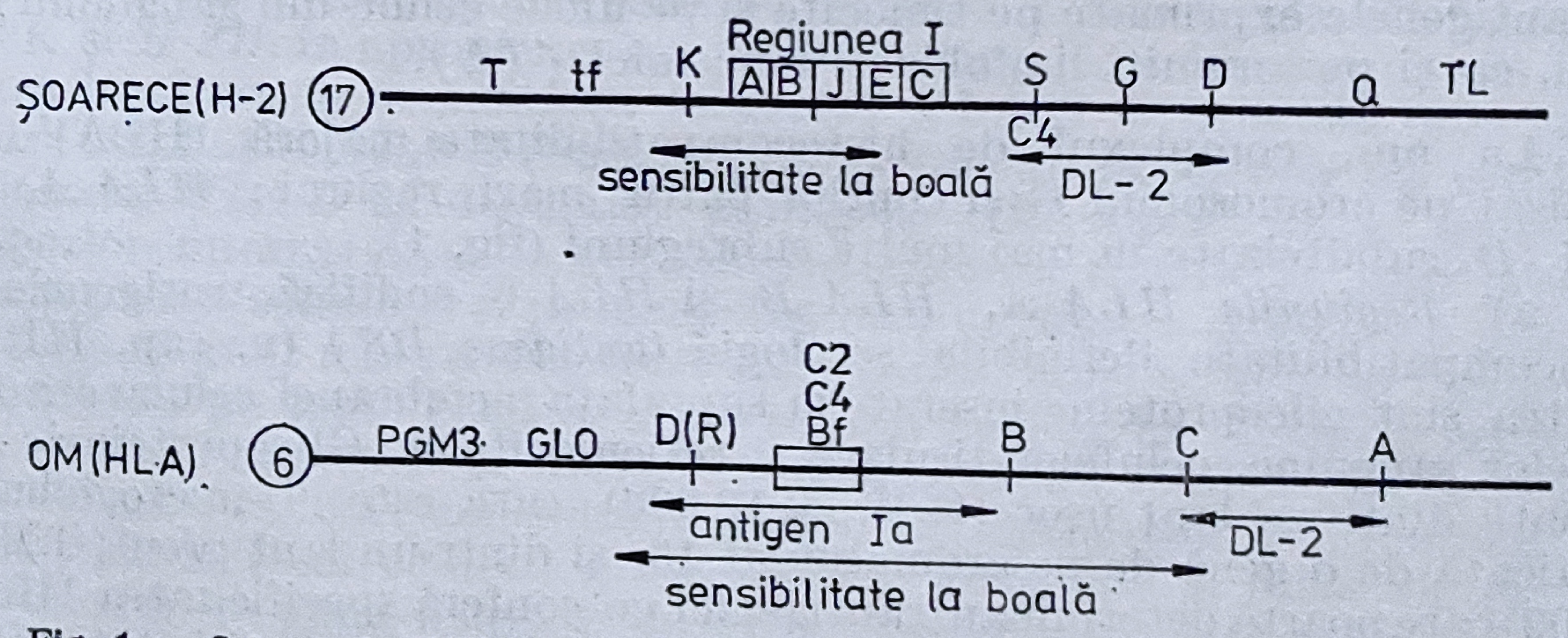


Fig. 1. — Schema localizării complexului major de histocompatibilitate la şoarece (H-2) şi la om (HLA).

La şoarece, complexul de histocompatibilitate-2 *(H-2)* este amplasat pe cromosomul 17, la dreapta centromerului. Conţine mai multe regiuni şi subregiuni :

---

[5] MHC = major histocompatibility complex.

[6] Genele ce controlează sinteza moleculelor Ig nu sînt asociate la MHC.

a) *Regiunile H-2K și H-2D* delimitează MHC și sînt separate printr-o distanță de 0,5 centimorgan. Aceste regiuni corespund genelor *K* și *D*, care codifică antigenele celulare de suprafață definibile serologic *(antigenele DS)*. Fiecare locus are alele multiple, care codifică specificități antigenice unice ale haplotipurilor specifice, precum și specificități antigenice distribuite în comun de-a lungul mai multor alele H-2 diferite.

Specificitățiile antigenice determinate de genele *K* și *D* sînt glicoproteine amplasate pe membranele de suprafață, avînd G.M. = 37—47 mii daltoni și conținînd 80—90% proteină și 10—12% glucide (v. cap. II, A). Aceste antigene participă la definirea histocompatibilității unui organism și contribuie la declanșarea proceselor de imunitate de transplantare (v. cap. III, F).

b) *Regiunea I* este localizată între locii *K* și *D*, imediat în dreapta locusului *H-2K* (fig. 1). Regiunea este divizată în 5 subregiuni: *I—A*, *I—B*, *I—J*, *I—E* și *I—C*. Aceste subregiuni controlează: interacțiunile dintre celulele T, celulele B și macrofage; sinteza antigenelor Ia asociate regiunii *I*; răspunsul imun la diferite antigene.

c) *Regiunea S* este localizată la dreapta regiunii *I* (fig. 1) și controlează sinteza proteinelor Ss — Slp. Locusul are cel puțin două alele, Ss^h și Ss^1, care controlează nivelele înalte sau scăzute ale ß-globulinelor din ser. Proteina Ss a fost identificată cu *componenta C4* a complementului, iar nivelele reduse de Ss sînt asociate cu nivelele scăzute al ecomplementului hemolitic total (Cl, C2 și C4) (v. cap. II, F).

d) *Regiunea G* este localizată între *S* și *D* (fig. 1) și controlează grupele sanguine.

În vecinătatea stîngă a regiunii *K*, pe același cromosom 17, către centromer, este amplasat locusul *T*, care controlează antigenele de diferențiere, și locusul *tf*, care este o mutantă recesivă pentru schimbarea părului. La dreapta regiunii *D* (v. fig. 1) sînt amplasați locii *Q* și *TL* care codifică antigenele exprimate pe timocite și pe unele celule din ganglionii limfatici, ca și pe anumiți limfoblaști leucemici *(TL)*.

La om, complexul de histocompatibilitate majoră (HLA)[7] este localizat pe cromosomul G și conține patru mari regiuni: *HLA-A*, *-B*, *-C* și *-D*, subdivizate în mai multe subregiuni (fig. 1).

a) *Regiunile HLA-A, HLA-B* și *HLA-C* codifică antigenele de histocompatibilitate definibile serologic (*antigene DS*) (v. cap. III, F). Acestea sînt glicoproteine inserate la suprafața membranei celulare a plachetelor sanguine, celulelor tisulare și reticulocitelor. Glicoproteinele sînt formate dintr-un lanț ușor (G.M. = 12 000), care este β_2-microglobulina codificată de o genă de pe cromosomul 15, și dintr-un lanț greu (G.M. = 43 000) care poartă determinanți antigenici ce conferă specificitatea HLA a moleculei și care este un produs al locilor *HLA-A*, -B și *-C*. Specificitățile HLA cunoscute pînă în prezent sînt prezentate în tabelul nr. 1. Aceste antigene au fost identificate prin testul de limfocitotoxicitate în prezența complementului (de iepure) și a unui ser imun cvasimonovalent, obținut de la femei însărcinate sau de la indivizi supuși transfuziilor cu sînge total.

b) *Regiunea HLA-D* conține genele ce codifică antigenele de histocompatibilitate definibile limfocitar *(antigene LD)* (v. cap. III, A și

[7]) HLA=Human Leukocite Antigens.

F), în culturi de celule limfocitare amestecate (MLC). Spre deosebire de antigenele HLA-A, -B şi -C, care sînt detectabile prin limfocite B şi produsele acestora (anticorpii), antigenele HLA-D sînt specific detectate de limfocite T, în MLC, unde celulele T ajutătoare produc cea mai mare proporţie de răspunsuri proliferative, iar limfocitele T citotoxice dezvoltă reacţii de distrugere şi liză (v. cap. III, C).

Tabelul nr. 1

Antigenele HLA definibile serologic (*antigenele DS*) **codificate de locii** *HLA-A, -B* **şi** *-C*

Locusul *A*	Locusul *B*	Locusul *C* *)
A1, A2, A3, A9, A10, A11, A28, Aw19, Aw36, Aw43	B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, Bw16, B17, B18, Bw21, Bw22, B27, Bw35, B37, B40, Bw41, Bw42, Bw46, Bw47, Bw48, Bw53, Bw54,	Cw1, Cw2, Cw3, Cw4, Cw5, Cw6

*) Locusul C fiind mai recent descoperit, antigenele DS descrise pînă în prezent sînt reduse ca număr.

c) *Regiunea Bf (C2, C4)* controlează factorii C2 şi C4 din calea clasică de activare a sistemului complement (v. cap. II, F) şi factorul B din calea alternativă.

La stînga regiunii *D*, de partea centromerului, tot pe cromosomul G, sînt amplasaţi locii *PGM3*, care codifică fosfoglucomutaza 3, şi *GLD*, care codifică glicoxilaza.

O comparaţie între hărţile genetice ale MHC la om şi şoarece (fig. 1) arată o bună asemănare. Principala diferenţă între şoarece şi om se referă la localizarea regiunii *I*, care controlează *răspunsul imun*, reacţiile în MLC şi antigenele Ia. La şoarece, regiunea *I* este amplasată între locii *H-2K* şi *H-2D*, în apropierea lui *H-2K*, în timp ce echivalentul său la om apare localizat în vecinătatea locusului *HLA-D* şi în afara intervalului dintre *HLA-A* şi *HLA-B* (Bodmer, 1978). La om, antigenele Ia, codificate de locusul *HLA-D* (şi denumite „antigene HLA-DRw" la cel de-al 7-lea simpozion internaţional de histocompatibilitate, din 1977), sînt prezente numai pe limfocitele B şi pe monocite, ceea ce înseamnă că au o distribuţie tisulară mult mai redusă decît antigenele HLA-A, -B şi -C (care pot fi identificate pe toate celulele organismului uman, cu excepţia eritrocitelor, celulelor spermale şi trofoblaştilor placentari) (v. cap. II, A şi B).

Genele *Ir*, care controlează răspunsul imun, sînt strîns asociate cu MHC; ele însă nu codifică moleculele de anticorpi, a căror sinteză este coordonată de gene nelegate de MHC. Genele *Ir* codifică un al doilea sistem de molecule de recunoaştere imunologică, acela al moleculelor receptorilor pentru antigen de pe celulele T (v. cap. II, A); astfel, genele *Ir*, prin produsele lor, influenţează indirect repertoriul de reacţii specifice al celulelor T (Jerne, 1971). Sistemul major de histocompatibilitate, prin intermediul genelor *Ir* asociate, coordonează deci proliferarea celulelor T stimulate antigenic, funcţionarea celulelor T citotoxice, diferenţierea celulei T, cooperarea T — B, dezvoltarea hipersensibilităţii întîrziate (v. cap. II, A şi III).

MHC şi sensibilitatea la boală. În urmă cu aproape trei decenii (Aird şi colab., 1954) au fost publicate primele dovezi privind asocierea dintre grupele ABO şi frecvenţa anumitor forme de boli maligne, în particular cele ale tractului gastrointestinal. Ulterior, odată cu descoperirea sistemului HLA, s-au observat relaţii semnificative între un anumit tip HLA al organismului şi riscul de a face o anumită boală clinic manifestă. O primă observaţie în acest sens a fost raportată de Amiel (1967), care constată o frecvenţă crescută a limfomului Hodgkin la indivizii cu specificităţi HLA — B5, — Bw35 şi —B15.

Odată clarificată posibilitatea de a corela unele „predispoziţii" la anumite boli cu tipul antigenelor de histocompatibilitate, studiile în această direcţie au fost mult lărgite (Dick, 1978) şi rezultatele au evidenţiat existenţa unor regiuni genice, asociate MHC, transmisibile ereditar, care codifică sensibilităţi pentru anumite boli.

Principalele categorii de boli care au fost evidenţiate ca prezentînd o asociere cu antigenele MHC cuprind în principal maladiile ereditare şi cele maligne (la care elementul ereditar este suspectat), ca şi bolile cu implicaţii imunitare (la care prezenţa markerilor HLA pe limfocite sugerează asociaţii cu MHC).

Aşa cum era de aşteptat, în cazul bolilor cu un marcat element ereditar, familial, asociaţia dintre prezenţa unui anumit antigen HLA şi riscul de boală este evidentă. Un exemplu în acest sens îl constituie spondilita anchilozantă (maladie cu etiologie necunoscută, afectînd în special bărbaţii şi implicînd osificări sacroiliace): 90% dintre bolnavi prezintă antigenul HLA—B27, care — în populaţia normală caucazoidă — se întîlneşte cu o frecvenţă de numai 10%. De asemenea, în anumite leucemii limfocitare a fost găsită o frecvenţă mare a antigenelor A2 şi B12, adesea ca pereche haplotipică.

În cazul multor maladii maligne este posibil ca sistemul HLA să acţioneze mai curînd în asociere cu rezistenţa, decît cu sensibilitatea la boală. Totuşi, printre anumite populaţii asiatice, la care carcinomul nasofaringian este frecvent, a fost posibil să se evidenţieze asocierea cu antigenul Bw46, iar la populaţia mongoloidă turcă, carcinomul esofagian apare cu mare frecvenţă la indivizii ce exprimă antigen B40.

Prezenţa de autoanticorpi serici, recunoscută ca o tendinţă familială, a fost găsită în asociere cu antigenul B8 la caucazoizi: această asociere este foarte frecventă în dermatitele herpetiforme, în enteropatiile sensibile la gluten, la diabetici şi în boala Addison.

Antigenul Bw35 a fost descris în Japonia ca frecvent asociat cu forma Graves de tiroidită, iar antigenul B5 cu boala Behçet (leziuni ulcerative orale).

Hemocromatoza este asociată cu haplotipul specific A3, B7, iar simplul defect în depozitarea fierului cu haplotipul A3, B14.

Studii mai detaliate, implicînd determinări de mai multe şi variate antigene HLA, au adus interesante elemente noi. Astfel, spre exemplu, în cazul sclerozei multiple s-a identificat o frecvenţă de 40% printre bolnavi a antigenului B7, faţă de 26% în populaţia normală. Asociaţia dintre antigenele HLA şi boala exprimată clinic a putut fi însă observată ca revelant crescută ca urmare a studierii antigenelor HLA-D: 70% dintre

bolnavii cu scleroză multiplă posedau antigen HLA-Dw2, în comparaţie cu frecvenţa de numai 16% a acestui antigen la populaţia sănătoasă (Dick, 1978).

Semnificaţia asociaţiei dintre MHC şi sensibilitatea la boală nu este încă suficient de bine elucidată. Au fost emise două ipoteze (Svejgaard şi Ryder, 1976), dintre care prima deţine chiar şi o bază experimentală.

Această primă ipoteză ia în consideraţie posibilitatea unei reactivităţi încrucişate între antigenele HLA şi cele ale unor microorganisme. O astfel de similitudine structurală nu va permite limfocitelor să recunoască drept „non-self" microorganismul invadant, astfel că organismul va fi supus unei infecţii persistente. O dovadă sugestivă în favoarea acestei ipoteze o constituie reactivitatea încrucişată dintre antigenul HLA-B27 şi anumiţi bacili Gram-negativi, în speţă specii de *Klebsiella*. Acest fapt sugerează că spondilita anchilozantă (unde 90% dintre bolnavi au antigen B27) este rezultatul unei infecţii latente cu *Klebsiella*, pe care organismul nu o recunoaşte ca „non-self" din cauza similitudinii sale antigenice cu B27.

Un alt mecanism propus pentru asocierea dintre antigenele MHC şi sensibilitatea la boală ia în consideraţie posibilitatea ca anumite antigene HLA, prezente ca receptori pe suprafaţa celulelor, să acţioneze ca liganzi pentru unii hormoni şi alte produse similare. Această ipoteză este atractivză mai ales pentru explicarea asociaţiei MHC — boală în cazul multor maladii care nu au substrat imunitar, cum este cazul hemocromatozei, schizofreniei, psoriazisului etc.

II

Elemente implicate în răspunsul imun

Răspunsul imun constituie expresia reacţiei organismelor vertebrate, dotate cu sistem limfocitar, la contactul cu substanţe străine, antigenice. Capacitatea de răspuns imun, complexitatea şi intensitatea acestuia sînt coordonate genetic, aşa cum a rezultat din prezentarea aspectelor filogenetice şi ontogenetice ale dezvoltării sistemului imun, precum şi a funcţiei genelor de răspuns imun (cap. I).

Exprimarea răspunsului imun se realizează printr-un grup eterogen de elemente celulare (limfocite şi macrofage) şi moleculare (anticorpi, sistemul complement, mediatori farmacodinamici), care contribuie definitoriu la reacţia organismului la diferitele structuri „non-self", antigenice.

Alături de aceste elemente determinante, care asigură calitatea şi tipul de răspuns imun, există desigur şi o serie de alţi factori (hormonali, neurotropi, vasculari etc.) ce pot participa la răspunsul imun, dar care sînt secundari, în sensul că pot modela cantitativ reacţiile imunologice, intervenind numai indirect şi nespecific în determinismul lor.

A. *Limfocitele T*

Caracterele morfologice nu pot deosebi limfocitele T dintr-o populaţie de limfocitele mici, în care toţi membrii au acelaşi aspect morfologic. Eterogenitatea populaţiilor de limfocite mici rezultă din alte proprietăţi, ca densitatea variată, mobilitatea electroforetică, durata de viaţă, localizarea preferenţială în anumite organe, răspunsul la anumiţi mitogeni, markerii de suprafaţă, funcţia biologică. Cu ajutorul acestor parametri a fost posibil nu numai să se diferenţieze limfocitele T dintr-o populaţie oarecare de limfocitele mici, dar chiar să se identifice, în cadrul limfocitelor T, mai multe subpopulaţii distincte, cu caracteristici funcţionale bine definite.

Cu ajutorul trasorilor radioactivi, a serurilor imune anti-markeri de suprafaţă, a metodelor de precizare a funcţiei imune şi a investigaţiilor pe tumori cu limfocite T a fost posibil să se clarifice mecanismele de diferenţiere a limfocitelor T şi a subpopulaţiilor specializate.

Funcţiile asigurate de limfocitul T în răspunsul imun se pot grupa în patru categorii, şi anume :

a) Stimularea specifică a limfocitelor B pentru a răspunde la un antigen fixat în comun, atît de limfocitul T, cît și de B ; această populație de limfocite T este definită ca *celule T ajutătoare (helper)*.

b) Recunoașterea determinanților antigenici non-self de pe anumite celule, pe care le poate distruge prin interacțiune celulară ; această funcție este testabilă în reacții grefă-contra-gazdă sau de eliminare a grefelor, iar subpopulația de celule T care îndeplinește funcția este denumită *celule T citotoxice* sau *celule ucigașe*.

c) Eliberarea de factori specifici, capabili să blocheze selectiv și ireversibil limfocitele T ajutătoare ; această subpopulație este cunoscută sub numele de *celule T supresoare*.

d) Eliberarea de *limfokine*, care : exercită un efect chemotactic asupra macrofagelor, acumulîndu-le la locul de inflamație ; activează procesul de fagocitoză la macrofage ; stimulează nespecific proliferarea limfocitelor în cursul răspunsului imun etc.

Dezvoltarea și diferențierea limfocitelor T la vertebrate are loc în timus (fig. 2), încă din perioada embrionară. Celulele T precursoare, derivate dintr-o celulă-stem limfoidă (un descendent timpuriu al celulelor-stem hematopoietice pluripotente prezente în ficatul fetal și măduva osoasă la embrion și în măduva osoasă la organismul adult), pătrund în timus

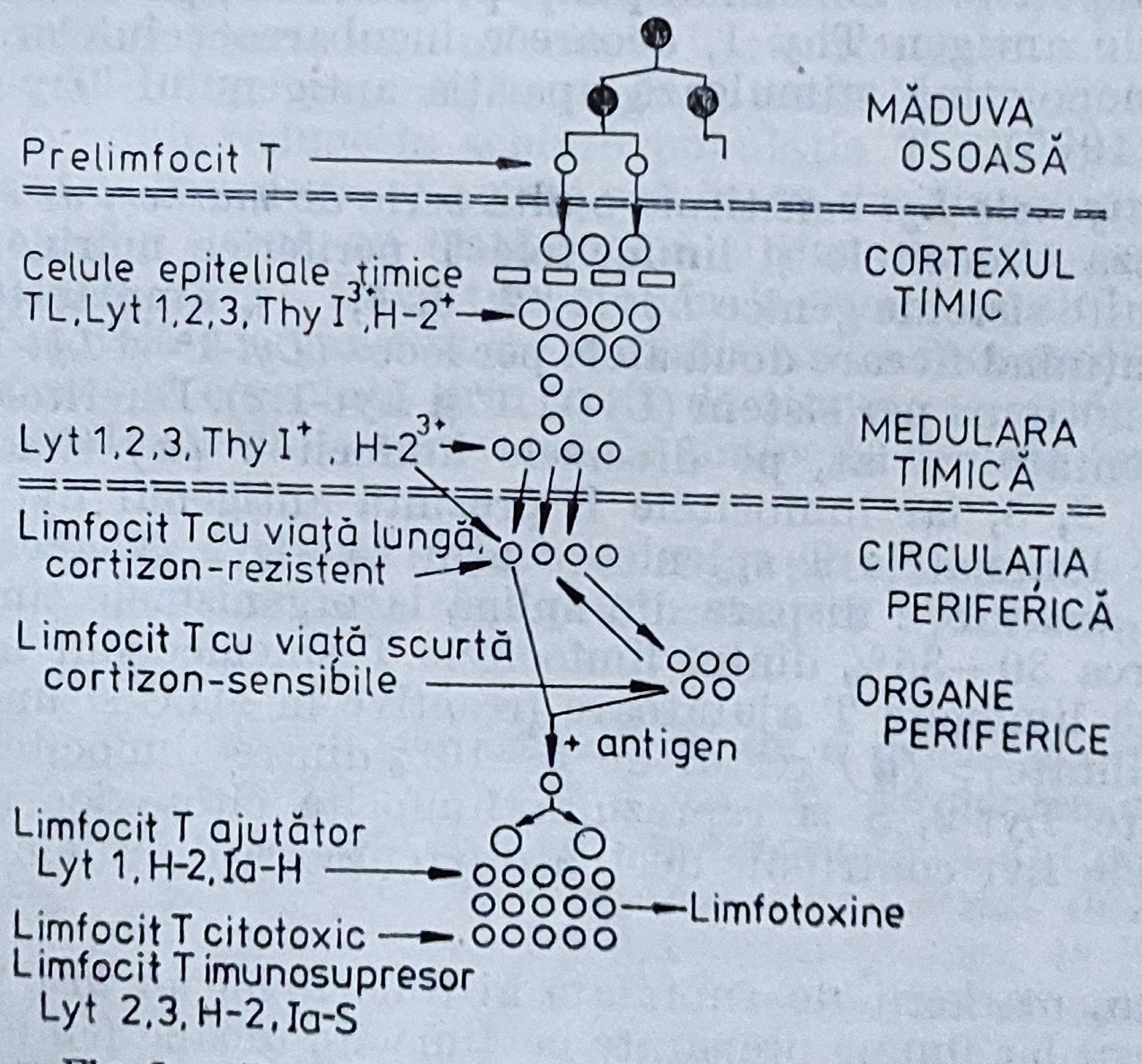


Fig. 2. — Dezvoltarea liniei limfocitare T la șoarece.

unde — sub influența celulelor epiteliale timice și a produșilor lor hormonali — sînt stimulate pentru diferențiere în *timocite*, celule ce prezintă la suprafață o serie de markeri specifici celulei T.

La șoarece, studiile inițiate de Cantor (v. Cantor și Boyse, 1975 ; Cantor și Weissmann, 1976) au permis să se identifice etapele dezvoltării

şi diferenţierii celulei T. S-a evidenţiat astfel că, prelimfocitul T (celulă rezistentă la cortizon şi ser anti-Thy 1), odată pătruns în timus, suferă acţiunea celulelor epiteliale timice şi se diferenţiază în „timocit", precursorul celulei T imunocompetentă. Timocitul din corticala timusului se caracterizează prin *markerul TL*, care este prezent atît pe suprafaţa timocitului cît şi pe cea a unor celule T leucemice, dar este absent pe celulele T periferice normale. Antigenul TL este genetic controlat, la şoarece, de gene localizate pe locusul *TLa*, de pe cel de al 17-lea cromosom, lîngă extremitatea *D* a locusului *H-2* (fig. 1).

Limfocitopoieza timică începe cu proliferarea timocitelor din corticală şi celulele rezultate sînt împinse în medulară şi apoi eliberate în circulaţie (fig. 2). S-a calculat că timusul de şoarece produce zilnic cam 5×10^7 timocite, ceea ce reprezintă de cinci ori cantitatea de limfocite din sîngele circulant.

Timocitul, atît cel din corticală, cît şi cel din medulara timusului, exprimă la suprafaţa sa şi *antigenul Thy 1* (sau *antigen theta*), ca şi antigenele H-2 de histocompatibilitate. Ambele antigene sînt păstrate şi pe celula T imunocompetentă eliberată în circulaţie; însă, în timp ce timocitul din corticală prezintă o densitate mare (3 +) de antigene Thy 1 şi cantităţi reduse (1 +) de antigen H-2, la ieşirea din timus celulele T deţin antigen H-2 în concentraţie mare (3 +) şi cantităţi mici (1 +) de antigen Thy 1. *Timopoietina*, hormonul polipeptidic timic, pare să fie inductorul producerii de antigen Thy 1, deoarece incubarea celulelor pretimice *in vitro* cu timopoietină stimulează apariţia antigenului Thy 1 (Basch şi Goldstein, 1975).

Aloantigenele Lyt constituie o altă serie de *markeri de suprafaţă* care caracterizează timocitele şi limfocitele T periferice murine. Sînt cunoscute mai multe sisteme genice *Lyt* (1, 2, 3, 4,...), amplasate pe cromosomul 6 şi conţinînd fiecare două alele per locus (*Lyt*-1^a şi *Lyt*-1^b) şi, respectiv, două fenotipuri per sistem (Lyt-1.1 şi Lyt-1.2). Diferitele sisteme Lyt sînt reprezentate variat, pe diversele limfocite: *(a)* timocitele conţin setul Lyt-1, 2, 3, iar limfocitele B prezintă antigenul Lyt-4; *(b)* circa 50% dintre limfocitele T splenice conţin Lyt-1, 2, 3 (acest subset este considerat „imatur": dispare din splină la organismele timectomizate); *(c)* alte circa 30—35% dintre limfocitele T splenice sînt marcate Lyt-1 şi reprezintă limfocite T ajutătoare (reactive în MLC şi unele reacţii de hipersensibilitate); *(d)* restul de 5—10% dintre limfocitele T splenice sînt marcate Lyt-2, 3 şi reprezintă limfocite citotoxice şi supresoare. Aloantigenele Lyt contribuie deci la diferenţierea diferitelor subseturi de limfocite T.

La om, markerii de suprafaţă ai timocitelor au fost identificaţi cu ajutorul serurilor imune preparate cu timocite umane fetale, cu celule T leucemice, cu linii limfoide T etc. (Waldmann şi Broder, 1979). Un antiser preparat cu subpopulaţii T de la un copil cu leucemie limfoidă acută, poate identifica un *marker TL* prezent, ca şi la şoarece, pe celulele T leucemice şi pe timocite imature, dar absent pe celulele T periferice normale. Un alt antiser, preparat cu celule T umane normale, s-a observat că poate reacţiona numai cu subpopulaţia de celule T periferice (denumite celule *TH 1* +) care proliferează în MLC, produc factor mitogen pentru limfocite,

participă la interacțiunile („helper") cu celulele B și acționează ca celule ucigașe alogenice. Cealaltă subpopulație T periferică *(celule TH 1—)*, care nu reacționează cu antiserul respectiv, este aptă să răspundă proliferativ în prezența antigenelor solubile.

Printre celulele T circulante umane se pot deosebi subpopulații distincte și prin receptorii lor de suprafață pentru moleculele Ig. Astfel, o subpopulație *(celule T_γ)* are receptori specifici pentru fragmentul Fc de IgG și este capabilă să rozeteze imediat (fără incubare) cu hematii învelite în anticorpi IgG. O altă subpopulație (celule T_μ) are receptori pentru fragmentul Fc de IgM și rozetează — după o incubare de 18 ore la 37^0 — cu eritrocite de oaie învelite cu anticorpi IgM. Aproximativ 65% din limfocitele T circulante sînt celule T_μ și 10—15% sînt celule T_γ. Celulele T_μ ajută maturarea limfocitelor B și sinteza de Ig în cursul răspunsului la mitogen, în timp ce subsetul T_γ are activitate supresoare. Markerii γ nu apar totuși total stabili, așa cum rezultă din faptul că celulele T_γ iradiate nu mai funcționează ca supresoare ci ca ajutătoare ale sintezei de Ig de către limfocitele B stimulate corespunzător.

Funcția principală a *timusului* este să genereze diverse tipuri de limfocite T și să le elibereze în circulație, de aici ajungînd în țesuturi și organe. Acest proces este foarte activ în primele zile de viață extrauterină, așa cum demonstrează și faptul că timectomia neonatală antrenează o severă imunodeficiență, în timp ce timectomia adultă nu produce o imunodeficiență imediată (deoarece limfocitele T recirculante, cu viață lungă, cortizon-rezistente, sînt prezente în sînge și limfă în cantități suficiente). Timectomia la adult reduce în schimb populația T din splină în cîteva săptămîni, ceea ce dovedește că aceste celule, cu diviziune rapidă, fuseseră recent eliberate din timus, au viață scurtă și sînt cortizon-sensibile (Cantor și Weissmann, 1976). Dacă timectomia la vîrstă adultă este urmată de iradiere X totală a organismului se realizează o incompetență imunologică, care poate fi corectată prin grefă de timus; se evidențiază astfel faptul că timusul constituie o rezervă de limfocite T de-a lungul întregii vieți.

Limfocitele T cu funcție imună pot fi grupate, după tipul de antigen Lyt pe care-l poartă, în două categorii: celule T ajutătoare și celule T ucigașe.

Limfocitul T ajutător are potențialul de a declanșa, ca urmare a unei reacții antigen-specifice, un semnal catalitic fie pentru celula B, fie pentru o altă celulă T, determinîndu-le să răspundă la antigenul prezent (Möller, 1975). Rolul limfocitului T ajutător este strict de catalizator, neinfluențînd cu nimic specificitatea anticorpilor produși de celula B stimulată. În ceea ce privește *cooperarea dintre limfocitul T ajutător și alte limfocite T*, aceasta este bine evidențiată de procesele ce au loc în *culturi limfocitare mixte* (MLC): în aceste condiții, celulele T ajutătoare (caracterizate prin complexul de antigene de suprafață Lyt 1, H-2, Ia-H, în cazul șoarecelui) răspund prin proliferare în prezența *antigenelor Ia*, expresie a locusului MHC (v. cap. I,E). Ca urmare a răspunsului proliferativ, limfocitele T ajutătoare eliberează factori solubili care stimulează proliferarea altor limfocite T, acestea deținînd markeri de suprafață de tipul celulelor citotoxice (Lyt 2, 3, H-2, IaS). Concomitent,

tot ca urmare a proliferării, celulele T ajutătoare eliberează și mediatori farmacologici care realizează recrutarea altor limfocite T ajutătoare.

O aceeași celulă T poate ajuta, simultan, atît un limfocit B, cît și altul T, să răspundă la antigen. *Cooperarea T — B și T — T* este realizată atît prin intermediul unor factori nespecifici pentru antigen, cît și prin factori specifici, ce pot lega antigenul (Munro și Taussig, 1975 ; Takemori și Tada, 1975). Dintre factorii nespecifici imunologic trebuie amintite în primul rînd antigenele MHC : histocompatibilitatea dintre celulele ce participă este indispensabilă atît în cazul cooperării T — B și T — macrofag (Katz și colab., 1973 ; Rosenthal și Shevach, 1973), cît și în cazul lizei celular mediată (prin limfocit T citotoxic) a celulelor non-self (infectate viral). Pentru cooperarea T — B este indispensabilă prezența antigenelor Ia (vezi mai departe), în timp ce pentru liza mediată celular sînt necesare antigenele MHC serologic definite.

Limfocitul T ajutător nu se poate transforma în celulă T ucigașă, citotoxică, sau în limfocit T supresor. În acest sens pledează experiențele lui Cantor (citat de Wigzell, 1976), care inoculează la șoareci T deficitari fie celule T ajutătoare singenice (histocompatibile), fie celule T ucigașe singenice ; asemenea animale, testate pentru imunocompetență cîteva luni mai tîrziu, au arătat prezența fie numai de celule T ajutătoare, fie — respectiv — numai de celule T ucigașe. În nici un caz nu s-a observat transformarea celulelor T ajutătoare în ucigașe sau supresoare, și nici invers.

După stimulare și exercitarea funcției sale ajutătoare (de cooperare), limfocitul T ajutător poate reveni la forma inițială de limfocit mic, ce nu se divide, circulant, cortizon-rezistent și cu viață lungă ; asemenea limfociți păstrează însă memoria contactului cu antigenul[8], ei constituind *celule de memorie imunologică.*

Limfocitele T ucigașe (citotoxice) fac parte — sub aspectul tipulu de antigene de suprafață — din același grup de limfocite cu *limfocitele T supresoare.* În procesul de stimulare primară, limfocitele T ucigașe sînt dependente de limfocitele T ajutătoare. În cazul unei a doua întîlniri cu antigenul (celula-țintă), nu este însă clarificat dacă cooperarea T ajutător — T efector mai este necesară. Faptul că și celulele T citotoxice ori supresoare prezintă memorie imunologică ar pleda pentru o anumită independență a lor în cursul răspunsului secundar. Spre exemplu, pentru a deveni o celulă T efectiv ucigașă, celula T potențială trebuie să vină în contact cu antigenul pentru care are receptor de fixare, iar contactul să se facă în prezența unei celule T ajutătoare ; ca rezultat, celula T potențială devine stimulată, se diferențiază blastic și prin diviziune dă naștere la limfocite T efectiv ucigașe. O celulă T ucigașă de memorie, cînd reintră în contact cu celula-țintă față de care are receptori pentru antigenele de suprafață, nu mai necesită diviziune pentru a-și exercita funcția biologică (Möller, 1975). Celula T ucigașă de memorie provoacă liza celulei-țintă numai după cîteva minute de contact.

---

[8] În cazul organismelor imunizate antituberculos, spre exemplu, asemenea limfocite mici, cu viață lungă și posesoare de memorie, se găsesc în circulația sanguină ; ele sînt primele care răspund la stimulul provocat de antigenul (PPD) administrat intradermic, acumulîndu-se la locul de inoculare, unde suferă o transformare blastică și proliferare rapidă, ca urmare a contactului cu antigenul (Păunescu, 1975).

Stimularea secundară „independentă" a limfocitului T supresor are loc numai în urma unui contact cu doze mari de antigen. În acest caz, procesul are ca rezultat suprimarea răspunsului imun, ceea ce constituie în esență un efect de reglare, foarte important spre exemplu în cazul fenomenelor de hipersensibilitate, în care suprimarea răspunsului la doze mari de antigen ferește organismul de efectele nocive proporționale.

Nu există încă date experimentale suficiente care să clarifice diferitele relații dintre celulele T ucigașe și cele supresoare. La șoarece, în afară de structura principalilor receptori de suprafață (Lyt 2, 3, H-2, Ia-S), care sînt identice pentru amîndouă aceste tipuri de celule, nu se știe dacă un astfel de limfocit T poate fi o celulă ucigașă sau/și o celulă supresoare.

Celulele T ucigașe potențial posedă antigenele specifice de suprafață înainte de a veni în contact cu imunogenul și păstrează aceiași markeri de suprafață de-a lungul întregului proces de imunizare.

Mecanismul de liză al celulei-țintă de către celula T citotoxică nu pare să fie rezultatul eliberării vreunui mediator farmacologic (limfokină) de către celula efectoare.

Limfocitele T supresoare acționează strict asupra limfocitelor T ajutătoare (fiind lipsite de acțiune asupra limfocitelor B), iar activitatea lor se exercită prin intermediul unor factori specifici (Herzenberg și colab., 1976). Limfocitul T supresor își exercită funcția biologică în mod specific, ca și limfocitul T citotoxic, numai față de acele celule pentru care are receptori care să le recunoască antigenele MHC serologic definibile (Shearer și colab., 1975). O dovadă elocventă în acest sens (Wigzell, 1976) a fost obținută folosind ca imunogene celule țintă infectate viral sau purtînd la suprafață anumite haptene cuplate : celulele T citotoxice care se dezvoltă în aceste condiții nu vor putea liza decît acele celule care poartă atît antigenele de histocompatibilitate ale celulei-imunogene, cît și antigenele virale (sau haptenele) respective. Celulele similare, care poartă antigenele virale (haptenele), dar provin de la alt organism, nu vor fi lizate. Restricții asemănătoare au fost observate și în cazul celulelor tumorale (pentru studiul acțiunii celulelor T citotoxice), ca și în cazul hipersensibilității (pentru studiul acțiunii celulelor T supresoare).

Dacă limfocitele ajutătoare reacționează cu structurile MHC definite în culturi limfocitare în amestec (antigenele Ia asociate regiunii *Ir* a sistemului *H-2*, în cazul șoarecelui), celulele T ucigașe recunosc locusurile serologic definite ale *MHC* (locusurile *H-2K* sau *H-2D* terminale ale sistemului *H-2*, în cazul șoarecelui).

Pentru a explica implicarea MHC în recunoașterea celulei-țintă de către limfocitul T citotoxic, au fost elaborate două concepte : (a) *ipoteza selfului alterat*, după care orice recunoaștere a unui antigen ca străin de către celula T ucigașă ar funcționa prin intermediul modificărilor survenite la nivelul MHC ; (b) *ipoteza dublei recunoașteri*, conform căreia, pentru a funcționa, limfocitul T ucigaș ar trebui să se poată lega specific de celula țintă atît prin receptorii săi pentru antigenul specific al acesteia (antigenul indus viral sau haptena cuplată pe suprafața celulei-țintă), cît și prin antigenele de histocompatibilitate. Încă nu există dovezi experimentale pentru a alege între cele două ipoteze dar — așa cum se va descrie mai

departe — rolul primordial al antigenelor MHC este atestabil și de marea densitate a receptorilor pentru aceste antigene, amplasați la suprafața limfocitului T.

Eliberarea de limfokine apare ca un proces caracteristic pentru limfocitul T activat, cu toate că este posibil ca astfel de mediatori farmacologici să fie puși în libertate și de limfocite B, dar în cazuri rare și în situații deosebite.

Cu toate că originea, structura și compoziția lor nu au fost încă suficient elucidate se cunoaște în prezent că mediatorii de tip limfokinic nu sînt imunoglobuline, ceea ce pledează odată în plus împotriva originii lor din limfocitul B. Precipitarea cu sulfat de amoniu 33% sau trecerea prin coloane cu imunoabsorbant pentru Ig nu modifică proprietățile biologice ale preparatelor ce conțin limfokine.

Eliberarea limfokinelor se face în prezența antigenului sensibilizant sau altor mitogeni, de către limfocitele T activate. Procesul este ușor evidențiabil *in vitro*, în culturi de celule, dar a fost demonstrat și *in vivo*: după inoculare de antigen specific, în limfa eferentă a ganglionilor limfatici ai animalelor cu hipersensibilitate întîrziată au fost puse în evidență limfokine.

Aceste produse ale limfocitelor T activate sînt intens sintetizate sub influența antigenului; prezența inhibitorilor sintezei proteice sau sintezei de RNA suprimă producerea de limfokine. Acești mediatori solubili nu sînt eliberați de limfocite înaintea stimulării.

Nu există însă relații structurale între antigenul sensibilizant și limfokine. Dealtfel, cele mai multe limfokine pot acționa în absența antigenului, iar eliberarea lor este realizabilă de limfocitele stimulate atît specific (prin antigen), cît și nespecific (prin PHA, Con A etc.), în absența antigenului (Păunescu, 1975).

Prin analiză complexă, implicînd acțiunea unor variate enzime (proteaze, neuraminidază) și fracționarea diferențiată (cromatografie pe coloană, gel — filtrare, electroforeză, ultracentrifugare etc.), s-a putut evidenția existența mai multor limfokine, cu structură și activitate biologică distinctă (Păunescu, 1975).

Limfokinele manifestă efecte biologice variate, care se exercită la nivelul unor celule distincte. După tipurile de celule asupra cărora acționează, se pot distinge:

A. Limfokine acționînd pe alte limfocite, dintre care cei mai importanți sînt (v. și cap. III, D):

1) *Factorul mitogen* (sau *blastogen*) care provoacă transformarea blastică și proliferarea limfocitelor B normale.

2) *Factorul de ajutorare* (sau cooperare), cunoscut și ca „factor de înlocuire a celulei T ajutătoare": activează diferențierea limfocitelor B în celule producătoare de anticorpi față de antigene timo-dependente.

3) *Factorul imunosupresor*, eliberat de celula T supresoare: suprimă activarea și diferențierea limfocitelor T ajutătoare.

4) *Factorul sensibilizant* (*de transfer* sau *de recrutare*): asigură sensibilizarea la antigen a altor limfocite, nesensibilizate (v. cap. III, D).

B. Limfokine acționînd pe macrofage (v. și cap. II, C și III, D):

1) *Factorul de inhibiție a migrării macrofagelor* (MIF): inhibă migrarea *in vitro* a macrofagelor, ca urmare a unor modificări induse la nivelul membranei celulare (v. cap. III, D).

2) *Factorul de aglutinare*: provoacă aglutinarea macrofagelor în suspensie.

3) *Factorul chemotactic*: provoacă migrarea macrofagelor (monocitelor) prin capilarele sanguine, la locul de eliberare a factorului.

4) *Factorul de activare a macrofagelor*: crește eficiența fagocitară a macrofagului, în paralel cu o activare a consumului de oxigen, a glicolizei și biosintezei lipidelor și proteinelor.

5) *Factorul de armare a macrofagelor*: crește eficiența citotoxică a macrofagelor față de celulele tumorale.

C. Limfokine acționînd pe polimorfonucleare:

1) *Factorul inhibitor al migrării leucocitelor*: inhibă migrarea polimorfonuclearelor neutrofile.

2) *Factorul chemotactic*: accelerează trecerea PMN neutrofile din sînge în țesuturi, realizînd acumularea lor la locul de eliberare a factorului.

3) *Factorul chemotactic pentru eozinofile*: accelerează acumularea de eozinofile, în prezența unor complexe antigen — anticorp.

4) *Factorul de activare a eozinofilelor*: accelerează migrarea eozinofilelor *in vitro*.

5) *Factorul chemotactic pentru bazofile*: atrage polimorfonuclearele bazofile.

D. Limfokine acționînd pe celule hematopoietice: s-a identificat un *factor stimulator de colonii*, care mijlocește diferențierea celulelor-stem din măduva osoasă în celule mieloide sau monocitare.

E. Limfokine acționînd pe osteoclaste: s-a identificat un *factor activator al osteoclastelor*, care mărește activitatea acestor celule (măsurată prin cantitatea de ^{45}Ca liberată din oase de embrion).

F. Limfokine acționînd pe linii celulare:

1) *Limfotoxina*: induce efecte citotoxice și citolitice *in vitro* asupra unor linii celulare (celulele L fiind utilizate ca etalon).

2) *Factorul inhibitor al proliferării* celulare și al formării de clone care pare să fie identic sau strîns corelat cu factorul imunosupresor, eliberat de limfocitul T supresor.

3) *Interferonul*, care inhibă multiplicarea virusurilor infectante *in vivo* și *in vitro*.

În afară de interferon, și alte limfokine au fost demonstrate ca fiind active și *in vivo*. Acesta este cazul, spre exemplu, al limfotoxinei sau al MIF, care, inoculat i.v., micșorează numărul monocitelor circulante, iar inoculat i.p. diminuă numărul macrofagelor peritoneale. Un alt efect, complex, al limfokinelor *in vivo* îl constituie procesul declanșat de așa-numitul „factor derm-reactiv'', care crește permeabilitatea capilară și declanșează la locul de inoculare infiltrate cu mononucleare; în acest caz, este foarte probabil că efectele observate sînt datorate acțiunii mai mul-

tor mediatori farmacologici, printre care factorii chemotactici şi cei activatori ai macrofagelor apar direct implicaţi.

Receptorii pentru eritrocite constituie substratul material al fenomenului de rozetare spontană pe care limfocitul T îl dezvoltă în prezenţa eritrocitelor eterologe. Asemenea fenomene de rozetare au putut fi puse în evidenţă la toate speciile animale investigate, însă procentul de limfocite care posedă receptorii de suprafaţă pentru eritrocite diferă atît cu specia, cît şi cu originea eritrocitelor.

La om, receptorii pentru eritrocite de oaie reprezintă un marker de suprafaţă pentru limfocitul T. Rozetarea spontană cu eritrocite de oaie are loc cu o frecvenţă de 95% în cazul limfocitelor umane din timus, 50–80% pentru cele circulante şi 20–40% pentru limfocitele splenice. Prezenţa serului anti-Ig nu inhibă procesul de rozetare spontană, în timp ce serul antilimfocitar (în prezenţa sau absenţa complementului) blochează rozetarea, ceea ce dovedeşte că celula efectoare este un limfocit T[9]. Rozetarea are loc în condiţii optime la 4–6°C şi este inhibată de formolarea prealabilă a eritrocitelor sau de prezenţa, în sistemul de contact, a unor alte eritrocite, provenite de la specii diferite în amestec cu cele de oaie.

Receptorii pentru eritrocite de oaie constituie deci, în cazul speciei umane, marker sigur pentru celula T şi testul de rozetare spontană reprezintă cea mai simplă metodă de evidenţiere a acestor limfocite. Aplicarea sistematică a testului de rozetare spontană la om a permis să se confirme fiabilitatea testului: numărul de celule formatoare de rozete scade în toate cazurile cînd are loc o descreştere a numărului de limfocite T (aplazia timică, leucemia limfatică cronică cu limfoblaşti B) şi creşte la bolnavi cu agammaglobulinemie.

Receptorii pentru antigen produşi de limfocitul T nu au o structură imunoglobulinică tipică, ceea ce îi deosebeşte esenţial de receptorii pentru antigen produşi de limfocitul B, şi care sînt molecule de Ig.

Pînă de curînd, receptorii pentru antigen de pe limfocitele T au fost identificaţi, fie cu lanţuri μ de origine IgM, fie chiar cu molecule IgG, posedînd lanţuri uşoare de tip *kappa*.

În 1972, Benacerraf şi McDevitt au evidenţiat că genele *Ir* (care reglează răspunsul imun), legate de locusul *MHC*, coordonează capacitatea de răspuns imun şi, totodată, determină potenţialul unei populaţii de limfocite T de a reacţiona cu anumite antigene. Mici modificări în structura unui antigen sînt suficiente pentru a determina celulele T controlate de gena *Ir* să nu mai răspundă la antigenul modificat, fapt ce demonstrează o capacitate mare discriminatorie a reacţiilor controlate de gena *Ir*.

Aceste date au condus la o primă ipoteză, conform căreia receptorii pentru antigenele de pe limfocitele T ar fi în ultimă instanţă produşi ai genelor *Ir*.

Iniţial, Lonai şi McDevitt (1974) au emis ipoteza că produsele genelor *Ir*, legate de H-2, ar fi exprimate pe limfocitele T, deoarece acestea

---

[9]) La şoarece, rozetarea cu eritrocite de oaie nu se realizează decît cu un număr foarte redus de limfocite (0,1–0,5 %) şi fenomenul este blocat de serul anti-Ig, ceea ce demonstrează implicarea limfocitului B în reacţie.

La cîine şi porc, rozetarea spontană a eritrocitelor de oaie manifestă caracteristici similare cu cele de la specia umană.

dețin un rol major în recunoașterea antigenului și în citoliza mediată prin anticorpi. Ulterior, s-a demonstrat că produsele genelor *Ir* au o structură imunoglobulinică și că aceste produse *(antigene Ia)* pot fi obținute din limfocite B și nu din limfocite T. Cu ajutorul serurilor imune specifice anti-Ia au putut fi vizualizate (tehnica imunofluorescenței) pe celulele B obținute din ganglioni limfatici, splină, leucemii limfoide B cronice, linii limfocitare B pure etc. În schimb, aceleași seruri fluorescente anti-Ia nu se fixează pe limfocitele normale circulante periferice (care conțin 80% limfocite T) și nici pe linii de celule T cultivate *in vitro*; numai o mică proporție dintre celulele T efectoare pot fixa serul anti-Ia (Murphy și colab., 1976).

Cercetări similare efectuate la om au arătat că produsele corespunzătoare ale genelor *Ir (antigenele HLA — DRw)* sînt prezente pe limfocitele B și pe monocite, dar nu pot fi identificate pe limfocitele T și nici pe alte tipuri de celule, ca fibroblaștii și neuroblastomii (Barnstable și colab., 1977). În schimb, serurile imune anti-HLA sînt fixate pe suprafața oricărei celule din organism, cu excepția eritrocitelor, celulelor spermale și trofoblaștilor placentari.

Serul anti-HLA inhibă reacțiile MLC (Ceppellini și colab., 1971) ceea ce denotă că, în procesele de reacție din culturile limfocitare mixte sînt implicate antigenele de histocompatibilitate. Serul anti-HLA din care se elimină anticorpii anti-HLA-A, anti-HLA-B și anti-HLA-C (prin adsorbție pe plachete sanguine, care conțin numai antigene HLA-A, HLA-B și HLA-C) continuă să blocheze reacțiile MLC, ceea ce arată că antigenele de histocompatibilitate implicate în MLC sînt în afara HLA-A, HLA-B și HLA-C. Acestea sînt antigenele Ia (HLA—DRw), codificate de locusul *HLA-D* și localizate pe limfocitele B.

O analiză mai detaliată a arătat că în reacțiile MLC, limfocitele T (conținînd determinanți HLA-A, -B și -C ca receptori fixatori de antigen) sînt efective în producerea răspunsului proliferativ, nefiind active în stimularea acestuia, iar limfocitele B (conținînd în plus antigenul HLA—DRw) sînt foarte eficace în stimularea răspunsului proliferativ, pe care însă nu-l pot iniția.

O confirmare a acestor date și precizarea structurii neimunoglobulinice a antigenelor HLA-A, -B și -C au fost obținute după solubilizarea, izolarea și analiza receptorilor pentru antigene de pe limfocitele T.

Pentru detectarea moleculelor antigen-specifice ale celulei T s-au folosit două căi: *(a)* investigarea caracterului de specificitate pentru antigen al moleculei prin folosirea de teste foarte sensibile de detectare a activității fixatoare de antigen, așa cum este testul de neutralizare a bacteriofagului (Binz și Wigzell, 1977); *(b)* precizarea activităților biologice ale acelor factori, obținuți din celula T, care manifestă capacitatea de a fixa antigenul. Pentru obținerea materialului ce leagă antigenul, celulele T au fost tratate fie cu enzime proteolitice (papaină) care clivează molecule polipeptidice de pe suprafața lipidică bistratificată a membranei celulare, fie cu detergenți anionici (deoxicolat de sodiu, Brij 99) care solubilizează receptorii de suprafață, păstrîndu-le intactă activitatea aloantigenică.

După purificări succesive, fie prin cromatografie pe geluri de poliacrilamidă cu dodecil-sulfat, fie prin gel—filtrare și coprecipitare imună,

s-a constatat că materialul fixator de antigen de pe celula T nu este o imunoglobulină, cu toate că deține, asemănător cu moleculele de Ig, două tipuri de lanțuri polipeptidice (unul greu, cu G.M. = 47 000, altul ușor, cu G.M. = 11 700), care conțin atît regiuni variabile, cît și constante, precum și o parte oligozaharidică, ce corespunde la 5—10% din G.M. totală a moleculei. Glicozidele sînt fixate pe lanțul greu. Lanțul ușor, neglicozidat, este identic cu β_2-microglobulina urinară. Lanțurile polipeptidice prezintă legături disulfurice atît intralanțuri (formînd domenii), cît și interlanțuri. Lanțul greu prezintă, ca și lanțul H de Ig, o regiune Gly-NH_2 terminală, purtînd caracterele de aloantigenicitate, și o altă regiune, COOH-terminală, hidrofilică, care probabil (Strominger și colab., 1977) este fixată sub membrana citoplasmică.

Pe baza evidențelor acumulate pînă în prezent, structura receptorului pentru antigen de pe limfocitul T este identică cu structura antigenelor majore de histocompatibilitate (HLA-A, -B, și -C la specia umană) și poate fi reprezentată ca în fig. 3. Prezența grupărilor sulfhidrilice în regiunea intracitoplasmică, hidrofilă, a lanțului polipeptidic greu sugerează posibilitatea cuplării în perechi a acestor lanțuri grele (v. fig. 3, B)

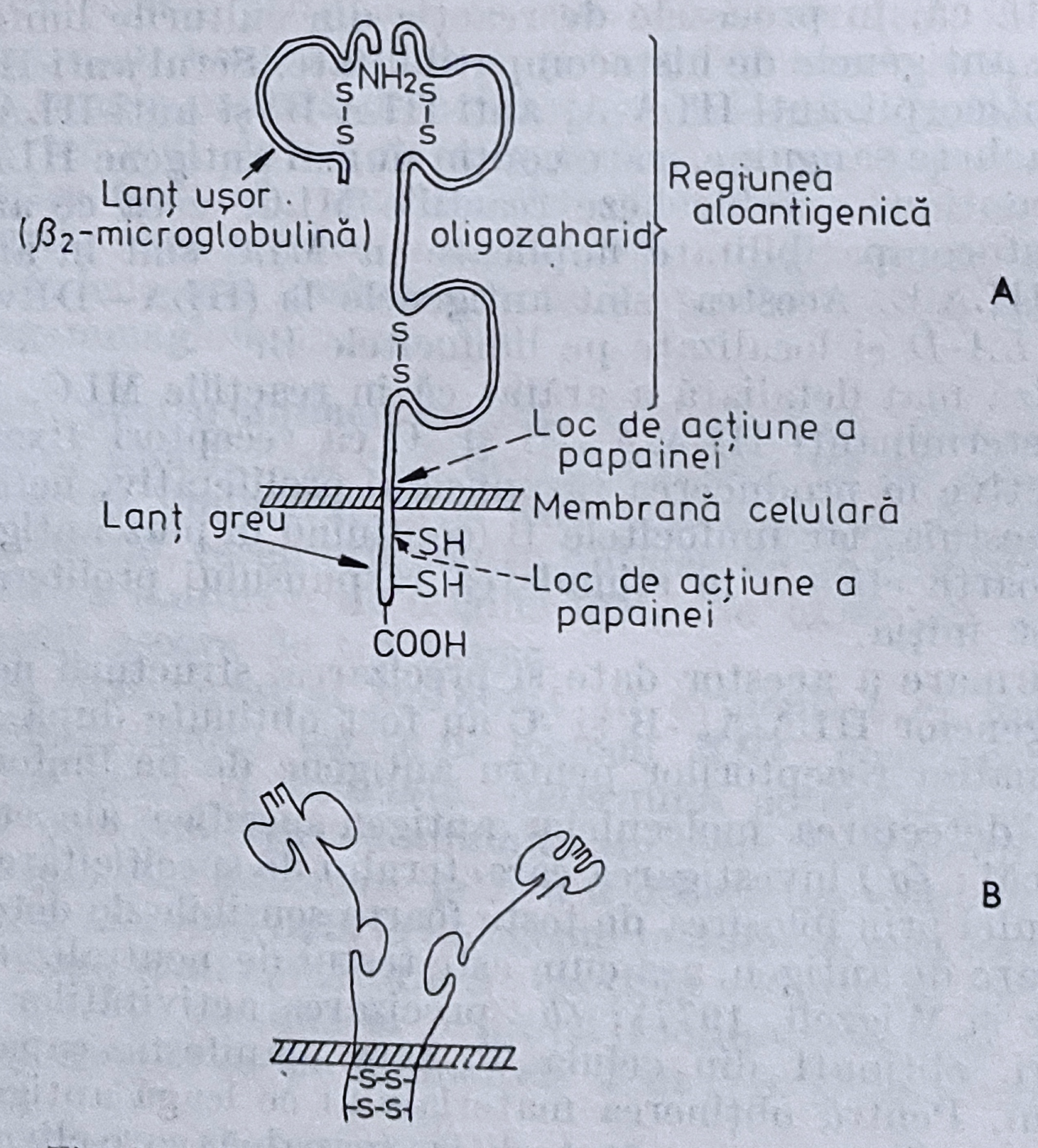


Fig. 3. — Structura probabilă (*A*) și posibilă (*B*) a receptorilor pentru antigen de pe limfocitul T.

Rolul sistemului major de histocompatibilitate în răspunsul limfocitului T la antigen este limitat la recunoașterea antigenului.

Genele *Ir*, care controlează răspunsul la antigene în mod specific, nu sînt implicate în codificarea moleculelor de anticorp (care, în prezent,

apar ca singurele molecule bine definite ce pot recunoaşte şi reacţiona specific cu antigenul). Produsele genelor *Ir* asociate sistemului de histocompatibilitate majoră (MHS) nu sînt identice cu moleculele de anticorp, ale căror lanţuri polipeptidic sînt codificate (v. cap. II, E1) de gene care nu sînt legate de MHS. Genele *Ir* asociate MHS codifică un *al doilea sistem de molecule de recunoaştere* care, în cazul limfocitului T, formează receptorii pentru antigen şi care, indirect, influenţează repertoriul reacţiilor specifice ale limfocitului T (Jerne, 1971).

În mod obişnuit, limfocitul T nu răspunde la antigenele libere în soluţii, ci numai cînd antigenul este agregat sau îi este prezentat pe suprafaţa unei celule adecvate, cum este macrofagul, celula tumorală sau celula infectată viral. Pentru a putea recunoaşte antigenul în vederea declanşării răspunsului specific, celula T are nevoie să realizeze o recunoaştere suplimentară, aceea a antigenelor MHC exprimate la suprafaţa celulei ce-i prezintă antigenul. Acest fenomen este cunoscut sub denumirea de *„restricţie MHC"* şi se traduce prin incapacitatea celulei T de a răspunde la un antigen care îi este expus de o celulă care are determinanţi ai regiunii *I*, asociată la MHS, diferiţi de cei ai celulei T. Dealtfel, serurile imune obţinute cu produsele genelor *Ir* sînt capabile să blocheze capacitatea limfocitului T de a răspunde la antigen.

Thomas şi colab. (1977) au folosit limfocite T de la un animal de primă generaţie (F1) sensibilizat la antigen, pe care le-au pus în contact *in vitro* cu macrofage ce purtau antigenul şi proveneau de la părinţii animalului. În aceste condiţii, celulele T de la F1 dezvoltau un răspuns imun secundar la respectivul antigen numai dacă macrofagele ce prezentau antigenul aveau acelaşi haplotip MHS ca şi macrofagele animalului F1 (acelea care participaseră la iniţierea răspunsului primar).

Fenomenul de „restricţie MHC" a fost observat şi în cazul celulelor T citotoxice („ucigaşe"); astfel, celulele T citotoxice provenind de la un şoarece infectat cu un anumit virus se dovedesc capabile să omoare celule-ţintă care trebuie nu numai să fie infectate cu acelaşi virus, dar şi să prezinte aceleaşi antigene MHC codificate de regiunile *K* sau *D* ale sistemului H-2.

Zinkernagel şi colab. (1978), folosind animale iradiate cu doze mari al căror sistem limfoid fusese ulterior reconstituit prin inoculare de celule alogenice de măduvă osoasă[10)], au constatat că limfocitele T citotoxice obţinute la aceste animale prin infecţie virală au o activitate limitată de tipul MHS al celulelor-ţintă, care trebuie să fie cel al receptorului (al purtătorului de „chimeră"). În plus, experienţe cu grefe de timus au arătat că antigenele MHS ale timusului (şi în particular cele ale celulelor epiteliale timice) sînt determinate în ceea ce priveşte tipul de „restricţie MHC": pentru a se realiza liza celulară specifică prin limfocite T citotoxice, celula-ţintă trebuie să poarte atît antigenul specific, cît şi acelaşi set de antigene MHC care este prezent pe limfocitele T efectoare şi pe celulele timusului (original sau grefat) purtat de donatorul de celule T.

„Restricţia MHS" se exercită şi în cazul celulelor T ajutătoare ce interacţionează cu limfocitele B în producerea de anticorpi, ca şi în cazul celulelor T care interacţionează cu macrofagele în reacţiile de hipersen-

---

10) Asemenea animale sînt cunoscute sub denumirea de *chimere de iradiere*.

sibilitate întîrziată. Deşi pînă în prezent celulele T supresoare n-au fost supuse unor investigaţii adecvate în această direcţie, este de aşteptat ca şi în cazul recunoaşterii antigenului de către aceste celule să intervină produsele MHS; dealtfel, în acest sens pledează restricţiile impuse de subregiunile I—J, observate în cazul activităţii unor factori supresori.

Ca şi în cazul celulelor T citotoxice, s-a constatat că, în răspunsul imun secundar, limfocitul T ajutător arată preferinţă pentru celulele B care deţin *acelaşi haplotip MHS cu macrofagele* ce au participat la iniţierea răspunsului primar (Kappler şi Marrack, 1976). S-a constatat de asemenea că celulele T, provenite de la şoarece P indus tolerant la naştere faţă de celule Q, nu pot coopera cu limfocitele B provenite de la şoarecele Q; în schimb, aceleaşi limfocite T de tip P-tolerant la Q pot coopera cu limfocitele B de tip Q dacă şoarecele P primeşte, la naştere, o grefă de timus Q. Rezultă că, pentru a putea coopera cu limfocitele B de tip Q, celula T trebuie în prealabil să sufere o diferenţiere într-un mediu de tip Q (timusul Q grefat).

Deşi pînă în prezent mecanismele fine ale cooperării T — B nu sînt suficient cunoscute, apare totuşi evident că, în vederea cooperării, celula T ajutătoare (sau anumite limfokine pe care le produce) trebuie să recunoască atît antigenul specific, cît şi produsul regiunii *I* exprimat pe limfocitele B cooperante.

„Restricţia MHS" sugerează ipoteza că, pentru a funcţiona în cadrul răspunsului imun, limfocitul este obligat să recunoască nu numai „non-self"-ul (antigenul), ci şi un caracter important al „self"-ului (sistemul de histocompatibilitate).

B. *Limfocitele B*

Principala funcţie a limfocitelor B este să recunoască antigenele şi, ca urmare, să se diferenţieze în celule secretoare de imunoglobuline-anticorpi. Moleculele de anticorpi secretate sînt distribuite, prin circulaţie, în întregul organism, realizînd un sistem eficient de apărare în special contra infecţiilor bacteriene. Limfocitele B nu sînt decît în mică măsură circulante; produsele lor efectoare sînt răspîndite în organism, prin limfă şi sînge.

Recunoaşterea antigenului de către celula B este realizată prin intermediul receptorilor de pe membrană, care sînt identici ca structură cu anticorpii eliberaţi de celulă după activarea sa.

Limfocitul B se dezvoltă la nivelul măduvei osoase, din celule-stem; pentru a deveni imunocompetente, ele beneficiază de influenţa unor organe limfoide specializate (bursa lui Fabricius, la păsări, şi — probabil — ţesutul limfoid ce însoţeşte tractul gastrointestinal, la mamifere).

Dezvoltarea limfocitului B este prezentată în schema din fig. 4. Celula precursoare, amplasată în viaţa embrionară în ficat şi apoi în măduva osoasă, este o celulă care, cultivată *in vitro* în condiţii corespunzătoare, dezvoltă colonii de celule cu potenţialităţi variate. *In vivo*, această celulă, care conţine în stadiul germinativ multiple gene V_L şi V_H (Potter şi colab., 1976), se diferenţiază într-o celulă care conţine un singur set de gene V_L

şi V_H (fenomen de excludere alelică) asociat cu 3—4 gene C_H; concomitent, celula în dezvoltare foloseşte genele pentru sinteza de molecule Ig de un anumit tip, aceste molecule devenind markeri de suprafaţă pentru respectiva celulă. Majoritatea acestor celule „timpurii'' se divid rapid la nivelul măduvei osoase a adultului şi generează un mare număr de limfocite B „virgine'', nemultiplicante (Osmond şi Nossal, 1974). Aceste celule B virgine, cu o densitate relativ mică a markerilor Ig de suprafaţă, sînt liberate în circulaţie şi populează organele limfoide periferice. La periferie, celula B virgină dacă vine în contact cu antigenul, în prezenţa celulei T ajutătoare, este stimulată, se diferenţiază blastic şi, concomitent, dă naştere la celule formatoare de anticorpi *(plasmocite)* şi la *celule B de memorie,* care reintră în circulaţie şi, pe această cale, chiar şi în măduva osoasă.

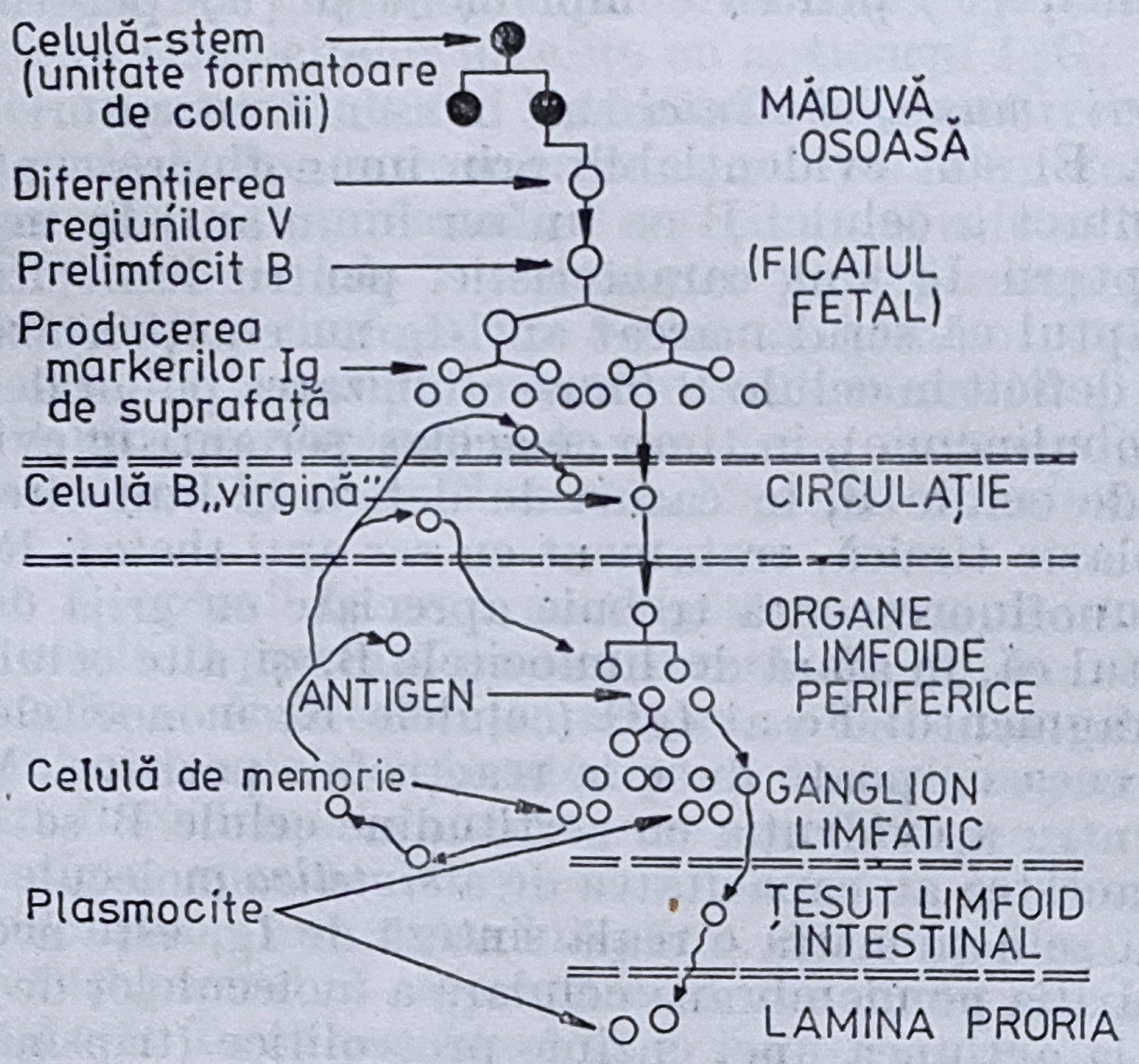


Fig. 4. — Dezvoltarea liniei limfocitare B la mamifere.

După intensitatea sintezei de molecule Ig de suprafaţă, Melchers şi colab. (1975) deosebesc trei tipuri de limfocite B: *(a)* celule care produc rapid Ig (turnover de 1—3 ore) şi care se găsesc predominant în măduva osoasă, fiind probabil limfocitele B virgine nemultiplicante; *(b)* celule care sintetizează rar molecule Ig şi au fost identificate în circulaţie şi în ganglionii limfatici, constituind probabil limfocitele B de memorie; şi *(c)* celule ce sintetizează şi secretă activ Ig, identificabile uşor în splină, şi care corespund limfocitelor B stimulate de antigen şi producătoare de plasmocite.

Receptorul antigenic de pe celula B este o moleculă Ig de un anumit unic tip[11)], care caracterizează limfocitul B şi îl deosebeşte net de lim-

---

[11)] O clonă de limfocite B sintetizează totdeauna un singur tip de molecule de Ig; singura excepţie a fost descrisă de Abney şi colab. (1976) pentru unele limfocite care prezentau simultan două clase de Ig, şi anume: IgM şi Ig D.

focitul T, lipsit de receptori Ig de suprafață. Funcția receptorilor Ig de a recunoaște și fixa specific antigenul este bine definită, spre deosebire de treptele ulterioare ale procesului, de activare, care nu sînt încă clar lămurite.

Fiecare limfocit B are un singur tip de receptor pentru antigen; adică, regiunile variabile ale tuturor moleculelor Ig receptoare de antigen (cap. II, E) de pe o celulă B sînt identice (și totodată diferite de cele prezente pe o altă celulă B, aparținînd unei clone diferită). Deoarece limfocitele B sînt capabile să recunoască o largă diversitate de antigene, rezultă că o celulă B, competentă să recunoască un anumit determinant antigenic, este rară; se estimează că numai un singur limfocit B din 10^6 poate identifica un anumit determinant antigenic.

Limfocitele B posedă trei categorii de *receptori de suprafață*: *(a)* imunoglobulinici, *(b)* pentru complement și *(c)* pentru fragmentul Fc al IgG.

Receptorii imunoglobulinici sînt în esență receptori de recunoaștere a antigenului. Ei sînt evidențiabili prin imunofluorescență, ca urmare a punerii în contact a celulei B cu un ser imun anti-Ig marcat cu fluorocrom[12]. Receptorii Ig sînt caracteristici pentru limfocitele B, așa cum rezultă din faptul că serul marcat anti-Ig nu reacționează cu limfocitele în cazurile de deficit în celule B (bursectomizarea puilor de găină, sindrom de agammaglobulinemie), în timp ce același ser anti-Ig evidențiază o proporție mare de celule B, în cazuri de deficit în limfocite T (timectomie neonatală, aplazie timică, tratament cu ser anti-theta). Rezultatele obținute prin imunofluorescență trebuie apreciate cu grijă deosebită, ținînd seama de faptul că, în afară de limfocitele B, și alte celule posedă receptori pentru fragmentul Fc al IgG (celulele K, monocitele și chiar unele limfocite T), ceea ce poate duce la reacții fals pozitive. Metoda cea mai confidentă pentru a evidenția cu certitudine celule B se bazează pe faptul că numai acestea au capacitatea de a *sintetiza* molecule de Ig. În acest sens, pentru a se demonstra o reală sinteză de Ig, este necesar să se evidențieze reapariția pe membrana celulară a moleculelor de Ig, după supunerea celulei la acțiunea unei enzime proteolitice (tripsină).

Spre deosebire de limfocitul T care fixează spontan hematii eterologe (fenomenul de „rozetare”), limfocitul B leagă asemenea hematii numai după o prealabilă sensibilizare sau învelire cu anticorpi specifici.

Receptorii pentru complement sau, mai precis, pentru componentul 3 al complementului (C3), pot fi evidențiați prin citoliza provocată de limfocitul B atunci cînd este pus în contact cu hematii învelite în anticorpi și complement. Este necesar ca să se folosească anticorpi IgM, pentru a putea face distincție între receptorii pentru C3 și cei pentru fragmentul Fc al IgG. O altă atenție specială trebuie acordată la interpretarea rezultatelor unui astfel de test, deoarece fagocitele, și în mod special monocitele și polimorfonuclearele, prezintă și ele pe membrana de suprafață receptori pentru C3, putînd realiza efecte hemolitice.

---

[12]) Ca urmare a fixării mai multor determinanți antigenici, structurile Ig, foarte mobile, de pe suprafața limfocitului B se aglomerează sub formă de *petice* („patches”). Acestea migrează spre regiunea uropodului celular, realizînd formațiunea denumită *boneță*, evidențiabilă prin imunofluorescență în prezența unui ser imun anti-Ig marcat cu un fluorocrom adecvat (Păunescu, 1975).

Dovezi suplimentare că limfocitele care fixează C3 sînt celule B rezultă și din faptul că sînt absente în timus, sînt rezistente la serul antitheta și apar în concentrații crescute la șoarecii „nude"[13] sau neonatal timectomizați.

De reținut că în timp ce toate limfocitele ce pot fixa C3 sînt celule B, nu orice limfocit B poartă receptori pentru C3 (numai cele care sintetizează clase și subclase de Ig fixatoare de complement).

Receptorii pentru fragmentul Fc al IgG sînt distincți de receptorii pentru C3; există dealtfel celule B care pot fixa IgG și nu pot lega C3, și invers. Limfocitele B ce posedă receptori pentru Fc fixează atît moleculele de IgG libere, cît și agregate de IgG, fixarea agregatelor fiind mai eficientă.

Evidențierea receptorilor pentru Fc se poate face prin autografie sau prin imunofluorescență, folosind complexe de antigen-(radio) marcat și anticorpi IgG specifici (marcați cu fluoresceină). Se mai poate folosi tehnica de rozetare a eritrocitelor învelite cu anticorpi IgG.

O proporție importantă dintre limfocitele B poartă receptori pentru Fc; există însă celule B lipsite de asemenea receptori (în funcție de tipul de molecule Ig pe care le sintetizează). De reținut că alte celule — ca monocite, celule K[14] și unele celule T activate — poartă receptori pentru Fc.

Mitogenii naturali ai limfocitelor B sînt antigenele. Celulele B de la șoarece răspund selectiv la lipopolizaharidul endotoxinei 0 și la serul anti-Ig; limfocitele B umane răspund slab sau deloc la lipopolizaharid, dar sînt bine stimulate de antigene de *Nocardia.* Nici un limfocit B nu răspunde la PHA sau Con A.

În afară de receptorii Ig pentru antigene și receptorii pentru C3 și pentru Fc, limfocitele B prezintă pe membrană și unii *markeri antigenici de suprafață.* Aceștia au însă calități imunogene slabe, astfel că utilizarea lor pentru diferențierea celulelor B este lipsită de interes practic. În acest sens, nu au putut fi evidențiate aloantigene specifice pentru celula B, iar așa-numitul „antigen specific citoplasmei", descris la limfocitele B de șoarece, este evidențiabil nu numai în splină, dar și în ficat și rinichi. La șoarece a fost totuși posibil să se prepare un ser imun capabil să diferențieze celulele B și cele T; se consideră că acest ser imun poate discrimina „antigenul leucocitelor din măduva osoasă", care ar fi specific celulelor B dintr-un anumit organism (sau, în cazul șoarecilor, dintr-un grup de indivizi inbred).

Antigenul specific celulelor B dintr-un organism este *antigenul Ia*, codificat de genele *Ir* asociate MHS. La șoarece, s-a demonstrat că antigenul Ia este produsul genelor *Ir* amplasate între locii *H-2K* și *H-2D* pe cromosomul 17 și se exprimă pe suprafața celulelor B (Murphy și colab., 1976), cu singura excepție posibilă, aceea a regiunii *I—J* care codifică antigene exprimate pe unele limfocite T. La om, antigenele Ia sînt exprimate pe celulele B și sînt codificate de regiunea *I*, legată de locusul *HLA*-D,

---

[13] Șoarecii „nude" (dezbrăcați), numiți astfel pentru că sînt lipsiți de păr, provin dintr-o linie mutantă de șoareci, și au drept caracteristică imunologică absența timusului.

[14] Între 2 și 10% din populația limfocitară periferică nu prezintă nici unul dintre markerii specifici pentru celulele B sau T. Asemenea *limfocite „nule"* (nemarcate) cuprind atît precursorii limfocitelor T și B, cît și așa-numitele *celule K* implicate în limfocitotoxicitatea față de celulele țintă învelite cu IgG. Celulele K posedă la suprafața lor numai receptori pentru fragmentul Fc al IgG. Limfocitele „nule" cresc ca număr la organismele cu deficiențe imune grave (aplazie timică, imunodeficiențe cu disociere a markerilor celulari etc.).

în afara intervalului dintre *HLA-A* și *HLA-B* de pe cromosomul 6; pentru aceste motive, antigenele Ia la om sînt definite ca *antigene HLA-DRw*. Monocitele circulante periferice de asemenea prezintă antigene de tip Ia (Bodmer, 1978).

Studiul antigenelor HLA-DRw a fost realizat cu ajutorul celulelor B leucemice și al unor linii celulare B întreținute *in vitro* (Möller, 1975; Bodmer, 1978). Antigenele de tip Ia au fost izolate de pe membrana celulelor B prin metodele obișnuite de obținere a antigenelor MHS (solubilizare cu detergenți anionici și purificare prin gel-filtrare și cromatografie). Pentru identificarea antigenelor HLA-DRw s-au utilizat antiseruri xenogenice, în prealabil adsorbite cu plachete sanguine (pentru eliminarea anticorpilor anti-HLA-A, -B și -C). Asemenea seruri imune adsorbite sînt specifice pentru HLA-DRw (Barnstable și colab., 1977) și reacționează specific cu limfocitele B și cu monocitele, iar fragmentele Fab obținute din aceste antiseruri pot bloca citotoxicitatea antiserurilor alogenice HLA-DRw pentru limfocitul B și, de asemenea, pot innhiba reacțiile din culturi limfocitare amestecate (MLC).

În aceste condiții experimentale s-a putut preciza structura antigenelor HLA-Drw (fig. 5), drept glicoproteină constituită din două lanțuri polipeptidice: unul mai greu, cu G.M. = 33 000, și altul mai ușor, cu G.M. = 28 000. Cele două polipeptide sînt legate între ele necovalent și ambele sînt glicozate, fiecare polipeptid purtînd cîte 2 molecule oligozaharidice. Molecula glicoproteinică de HLA—DRw este implantată în membrana celulară, iar papaina acționează deasupra membranei celulare. Lanțul greu (33 000) poartă un determinant aloantigenic, detectabil prin activitatea aloantigenică a produsului de hidroliză papainică a moleculei HLA-DRw. Baza chimică a aloantigenicității, adică diferențele în secvența aminoacizilor constituenți, încă nu este cunoscută.

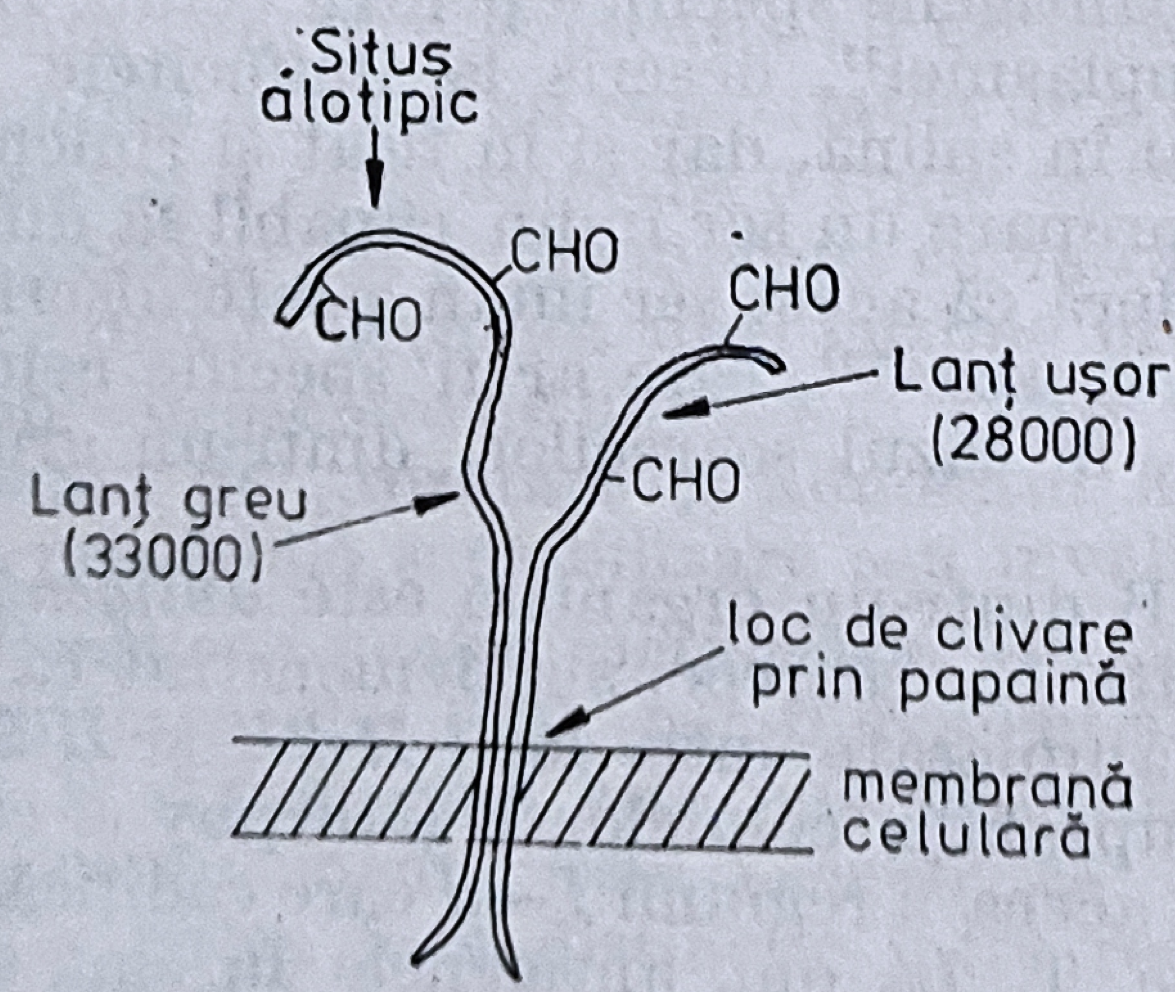


Fig. 5. — Structura probabilă a antigenului HLA-DRw de pe limfocitul B (—CHO: locul de fixare a oligozaharidelor).

Antigenele Ia (respectiv HLA-DRw la specia umană) dețin o structură asemănătoare cu cea a receptorilor pentru antigen de pe celula T și, în linii generale, cu cea a moleculelor de Ig. Aceste antigene Ia pot constitui markeri de suprafață ai limfocitelor B.

În tabelul nr. 2 sînt prezentate deosebirile dintre limfocitele B și limfocitele T.

Răspunsul la antigen al limfocitului B este determinat de doi factori: *(a)* specificitatea pentru antigenul în cauză a receptorilor Ig de

Tabelul nr. 2

Caracterele principale de diferenţiere între limfocitele B şi limfocitele T

Caracterul	Limfocitul B	Limfocitul T
1. Locul de diferenţiere	Bursa lui Fabricius sau echivalentul (ţesut limfoid intest.)	Timus
2. Antigene de suprafaţă	Ia (HLA—DRw la om)	TL, Thy-1, Lyt, 1,2,3 (la şoarece)
3. Receptor pt. antigen	Ig	MHC
4. Alţi receptori de suprafaţă	C3 şi Fc de IgG	Fc de IgG (la om : pt. eritrocit de oaie)
5. Mitogeni nespecifici	LPS, *Phytolacca*	PHA, ConA, *Phytolacca*
6. Prezenţa în diferite organe (%) :		
— sînge şi limfă (canal toracic)	10—15	85—90
— ganglioni limfatici	15	85
— splină	65	35
— măduva osoasă	10—15	sub 3
— timus	sub 3	peste 97
7. Localizare în ganglioni limfatici	În foliculi, în jurul centrilor germinativi	În ariile timus-dependente
8. Recirculare sanguină	Foarte redusă	Accentuată
9. Durata de viaţă	Majoritatea au viaţă scurtă	Cele circulante au viaţă lungă
10. Sensibilitatea la :		
— iradiere X	+++	+
— ser antilimfocitar	±	+++
— ciclofosfamidă (doze mari)	+++	+
— azatioprină	+	+++
11. Funcţii	Producere de anticorpi. Producere de anticorpi blocanţi sau citotoxici pentru grefă (tumoră). Realizează toleranţă tîrzie şi tranzitorie	Reglarea producerii de anticorpi (cooperare sau supresie). Celule efectoare în hipersensibilitate întîrziată şi în rejecţia de grefă (tumoră). Realizează toleranţă timpurie şi persistentă.

pe suprafaţa limfocitului; *(b)* prezenţa limfocitului T ajutător, în mod particular în cazul antigenelor timus-dependente (TD). Rezultă că, cel puţin în cazul antigenelor TD, mecanismul de activare al limfocitului B implică existenţa a două categorii de stimuli : unul din partea antigenului şi altul din partea limfocitului T ajutător.

Pe această bază a fost elaborată *teoria celor două semnale*, care consideră că atunci cînd antigenul interacţionează cu receptorii Ig, limfocitul B primeşte un semnal tolerogen, care se traduce prin reducerea capacităţii de a sintetiza anticorpi (Bretscher şi Cohn, 1970); apare astfel nevoia celui de-al doilea semnal, care este emis fie de o celulă cooperantă (limfocit T în cazul antigenelor TD), fie direct de antigen (în cazul antigenelor timus-independente), datorită structurii sale particulare. Această teorie este mai puţin apreciată în prezent, deoarece — aşa cum s-a specificat la limfocitul T — acesta apare drept celula care poate discrimina „self-"ul de „non-self". Proprietatea limfocitului T de a reacţiona la „self" prin

toleranţă (Möller, 1975), ar explica pe de o parte mecanismul de eliminare a pericolului formării de autoanticorpi, şi pe de altă parte ar contribui la înţelegerea mai bună a rolului limfocitului T ajutător în cooperarea T — B.

O serie de lucrări mai recente ale lui Möller şi Cutinho (v. Möller, 1976) demonstrează că antigenele timus-independente (TI) sînt activatori policlonali ai celulelor B, cu acţiune similară polizaharidelor bacteriene (LPS şi polizaharidele pneumococice): tuberculina purificată, celule bacteriene integrale, poliene sintetice. Pentru activarea prin aceste tipuri de stimulatori, autorii constată că este suficient *un singur semnal nespecific*, care nu interesează receptorii Ig de suprafaţă. Antigenul stimulant se fixează pe celule B care au receptori complementari faţă de respectiva moleculă antigenică, astfel că efectul stimulator nespecific al activatorului se va exercita strict asupra acelor celule pe care s-a fixat. Procesul ar avea astfel ca efect dezvoltarea unei singure clone, producătoare de receptori ce pot fixa respectivul antigen stimulator.

Drept cauză a efectului stimulator al antigenelor Ti asupra celulelor B, Möller ia în consideraţie proprietăţile intrinseci ale moleculei antigenelor TI, receptorii Ig de suprafaţă folosind numai pentru fixarea antigenului; iar în ceea ce priveşte antigenele TD, consideră că celulele cooperante (limfocitul T ajutător şi macrofagul) ar fi cele ce emit semnalul stimulant, receptorilor Ig revenindu-le şi în acest caz rolul limitat de legare a celulelor B cu cele T.

Cunoştinţele actuale, lărgite, asupra coordonării şi rolului antigenelor MHC şi Ia la suprafaţa limfocitelor, ar putea modifica ipoteza semnalului unic elaborată de Möller şi Cutinho în sensul implicării receptorilor de tip MHC în calitate de iniţiatori ai stimulului nespecific policlonal. Prin fixarea antigenului de către receptorul Ig complementar, moleculele de tip Ia din vecinătate pot fi de asemenea influenţate de prezenţa antigenului şi, prin aceasta, ar fi posibil să iniţieze stimulul activator pentru diferenţiere blastică şi proliferare, în absenţa limfocitului T.

C. *Macrofagele*

În 1882, Metchnikoff a descris pentru prima oară celulele fagocitare şi rolul lor în rezistenţa organismului la infecţii. În prezent, se cunoaşte că funcţia celulelor fagocitare, în particular a macrofagelor, nu este limitată la distrugerea agenţilor infecţioşi, ci include şi participarea la numeroase procese imunologice (v. cap. I, A1 şi B).

Macrofagele îşi au originea în celulele-stem din măduva osoasă. Această celulă-stem, multipotenţială, poate da naştere — în condiţii de diferenţiere încă neprecizate şi, posibil, prin mai multe etape intermediare — la promielocite. Prin maturarea acestora se formează monocitele, care sînt liberate în circulaţie. Din vasele sanguine, prin diapedeză, monocitele trec în ţesuturi şi organe unde se diferenţiază în celule fagocitare mononucleare specifice organului care le găzduieşte: macrofage alveolare în plămîni, histiocite în ţesutul conjunctiv, macrofage pleurale, peritoneale, ganglionare etc.; alte monocite sînt fixate de-a lungul sinusoidelor hepa-

tice (celule Küpffer) sau splenice. Diferențierea macrofagică antrenează o creștere a taliei celulare și o mărire a numărului de lizosomi citoplasmatici.

Durata de viață a macrofagelor diferă în funcție de țesutul ce le găzduiește: ea este de 20—40 de zile pentru macrofagele peritoneale, 50 de zile pentru cele alveolare, 60 de zile pentru celulele Küpffer și pînă la peste 100 de zile în țesutul conjunctiv.

În mod obișnuit, monocitul este o celulă care nu se mai divide; totuși, în cazuri speciale, cum sînt granuloamele create prin inocularea subcutană de adjuvant Freund complet, monocitul migrat local se diferențiază macrofagic și apoi începe să prolifereze. Similar, ca urmare a înglobării de micobacterii, ulei sau adjuvanți minerali, macrofagul se poate transforma în celulă gigantă, multinucleată, sau în celulă epitelioidă.

Citoplasma macrofagului conține numeroase mitocondrii, de dimensiuni variabile; de asemenea, conține reticul endoplasmic, ribosomi (a căror densitate este net crescută la macrofagele din focare infecțioase sau după imunostimulare), aparat Golgi, lizosomi numeroși (în monocit aceste formațiuni sînt rare), vacuole pinocitare formate prin invaginarea membranei hialoplasmei. Membrana hialoplasmică prezintă mișcări continue la suprafața macrofagului, care asigură și procesele de endocitare.

Pe membrana de suprafață a macrofagelor pot fi identificați receptori pentru componentele complementului și pentru fragmentul Fc al anticorpilor IgG.

Macrofagele poartă de asemenea antigene de histocompatibilitate specifice (H-2 la șoarece, HLA la om etc.).

Dintre *funcțiile macrofagului* în procesele de răspuns imun trebuie amintite în primul rînd cele de captare și prelucrare a antigenului. Acesta poate fi fixat la nivelul membranei citoplasmatice a macrofagului, formă în care antigenul devine puternic imunogen (Unanue și Cerrottini, 1975). Macrofagele participă la medierea răspunsului imun datorită capacității lor de a lega produsele celulei T. Feldmann (1972) a evidențiat că, după fixarea unui complex format din antigen și un produs al celulei T, macrofagul poate transfera „ajutorul" celulei B, stimulînd-o. Macrofagele pot de asemenea transfera capacitatea de supresie, atunci cînd sînt „armate" cu un factor provenit de la limfocitul T și sînt stimulate antigenic (Zembala și Asherson, 1974). Acest ultim efect este analog cu mecanismul efector prin care macrofagele devin citotoxice, ca urmare a unei „armări" similare cu limfokină produsă de celula T și a stimulării antigenice (Evans și colab., 1972).

Alte funcții ale macrofagului nu sînt dependente de legarea antigenului și/sau limfokinelor pe membrana sa de suprafață. Din această categorie fac parte procesele secundare fagocitării antigenului, constînd din elaborarea de „RNA imunogen" și de factori imunoregulatori.

Fagocitoza este una din funcțiile biologice principale ale macrofagului, care are ca rezultat degradarea materialelor străine din organism.

La locul de invazie a unui astfel de corp străin, țesutul eliberează substanțe speciale *(factori chemotactici)* ale căror gradiente de concentrație (Zigmond, 1974) macrofagele le percep și declanșează fenomene chemotactice (Keller și colab., 1975). Concomitent, agentul invadant este învelit cu anumite proteine tisulare, cunoscute sub numele de *opsonine* și care

sînt molecule de Ig și componenți ai sistemului complement. Acești factori sînt recunoscuți de receptori specifici de pe suprafața macrofagului, fapt care ușurează fagocitoza.

Procesul de fagocitoză propriu-zisă începe prin captarea corpului străin (particulat sau molecular), cu ajutorul membranei hialoplasmei, care învelește materialul de endocitat și îl atrage intracitoplasmic sub formă de vacuolă fagocitară (pinocitară). Aceste vacuole continuă să sufere deplasări intracitoplasmice, pînă ce ajung în zona perinucleară, unde fuzionează cu *lizosomii „primari"*. Formațiunile lizosomale își au originea în cisterna reticulului endoplasmic, de unde sînt preluate de complexul Golgi, care le eliberează în citoplasmă. Lizosomii conțin o bogată serie de enzime hidrolazice acide (catepsine, glucuronidaze, nucleaze, fosfataze, lizozim etc.), în stare inactivă. În urma fuzionării lizosomilor cu vacuola pinocitară, enzimele lizosomale devin active, iar formația rezultată constituie *lizosomul secundar* (sau fagosomul). În aceste formații are loc degradarea (digestia) materialului fagocitat (Dingle și colab., 1979).

La distrugerea materialului fagocitat (microorganisme, celule degradate etc.) concură nu numai enzimele lizosomale, ci și o serie de produși bactericizi rezultați dintr-o funcție metabolică deosebită, care se declanșează numai în fagocitul activat și care implică reducerea parțială a oxigenului. Procesele metabolice care duc la liberarea de factori bactericizi sînt caracterizate prin intensificări ale consumului de O_2, ale producerii de superoxizi (O_2^-) și de H_2O_2 și ale activității șuntului hexozo-monofosfatului (Babior, 1978).

Peste 80% din consumul de O_2 crescut ce apare după activarea fagocitului este destinat producerii de superoxid , care, prin dismutare, este convertit în peroxid de hidrogen :

$$2O_2 + NADPH^- \rightarrow 2O_2^- + NADP^+ + H^+$$
$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

Acumularea de flavoproteină redusă ($NADP^+$) care rezultă din producerea de superoxid duce la activarea șuntului hexozo-monofosfatic, proces în care glucoza este oxidată în bioxid de carbon și o pentoză, $NADPH^+$ intervenind ca acceptor de electroni (Dingle și colab., 1979).

Blocarea prin rifamicine a procesului de intensificare a șuntului hexozo-monofosforic ca urmare a stimulării macrofagelor (Păunescu și colab., 1971) nu influențează decisiv funcția fagocitară, după cum — invers — blocarea fagocitării prin citocalazină B (Root și Metcalf, 1977) nu influențează activarea proceselor metabolice de reducere a oxigenului. Aceste date argumentează pentru o relativă independență a proceselor de înglobare și a celor de reducere metabolică.

RNA imunogen este obținut, prin extracție fenolică, din macrofage care au procesionat antigenul. Extractele obținute sînt capabile să inducă producerea de anticorpi specifici în culturi de celule provenite din ganglioni limfatici și în absența antigenului (Adler și colab., 1966). Anticorpii produși în aceste condiții erau de două tipuri : *a)* primii, apăruți după 4—5 zile de cultură, erau 19 S (IgM) și prezentau, pe lîngă specificitatea pentru antigen, și alotipul celulelor din exsudatul peritoneal folosite pentru extragerea RNA imunogen ; *b)* al doilea tip de anticorpi, apăruți la 10—13 zile, erau 7S (IgG) și aveau alotipul celulelor ganglionului limfatic folosit pentru cultură. Nu se observă sinteză de anticorpi

dacă preparatul de RNA imunogen era în prealabil supus acţiunii ribonucleazei.

Lucrările iniţiale ale lui Adler, Fishman şi Dray au fost reluate de mai mulţi cercetători şi constituie subiectul mai multor aspecte controversate. Pentru explicarea rezultatelor obţinute s-au emis mai multe ipoteze :

a) În ceea ce priveşte anticorpii IgG, există un consens în a admite că producerea lor este cauzată de prezenţa în preparatul de RNA imunogen de mici cantităţi de antigen, a cărui antigenicitate este puternic amplificată de acţiunea adjuvantă a RNA obţinut din celulele exsudatului peritoneal. Rolul adjuvant al RNA în inducerea răspunsului imun a fost dealtfel clar demonstrat, iar, mai recent, White şi Johnson (1976) au evidenţiat că complexele RNA-antigen arată *in vivo* proprietăţile unui antigen timus-independent.

b) Producerea iniţială de anticorpi IgM cu alotipul donatorului de RNA a fost interpretată de mai mulţi autori ca sugerînd că producţia de anticorpi ar fi realizată de macrofage şi nu de limfocite. Dealtfel, în acelaşi sens, Bussard şi colab. (1970) prezintă date după care celule peritoneale cu caractere de macrofage sînt capabile să sintetizeze anticorpi.

c) Acest mod de interpretare a rezultatelor a constituit obiectul unor controverse, evidenţiindu-se faptul că materialul peritoneal de la care s-a pornit în respectivele experimente nu era probabil constituit numai din macrofage, ci şi din limfocite. Iniţial s-a considerat că, dacă extracţia de RNA s-a practicat pe celule aderente la sticlă, aceasta însemna că s-a făcut pe macrofage. Ulterior însă s-a demonstrat că există şi limfocite B care aderă la sticlă (Julius şi colab., 1973) ; de asemenea s-a raportat obţinerea de RNA imunogen şi din ganglioni limfatici, care conţin un număr foarte redus de macrofage comparativ cu cel al limfocitelor.

d) În sfîrşit, mai mulţi cercetători care au constatat că RNA imunogen nu are proprietăţi de RNA mesager (Gottlieb, 1968) au considerat că în absenţa acestei calităţi RNA imunogen nu poate induce sinteza de proteine anticorpi. Mai recent, Bilello şi colab. (1976) au adus dovezi conform cărora o parte din molecula de RNA imunogen are proprietăţi de mesager.

Oricare ar fi originea (strict macrofagică şi/sau limfocitară) a RNA imunogen şi oricare ar fi mecanismul său de acţiune (ca mesager, ca adjuvant etc.), un singur lucru este bine precizat : apariţia în celulele participante la procesul imun şi stimulate antigenic a unui RNA cu capacităţi imunogene.

Date mai recente din domeniul biologiei moleculare au repus problema RNA imunogen într-o lumină nouă. Astfel, în 1974, Funderburgh şi colab. au raportat existenţa unei sinteze de DNA sensibilă la ribonuclează în celule splenice de şoarece stimulate cu lipopolizaharid. Ulterior, Păunescu şi Dănălache-Dumitrescu (1976) au semnalat că din culturi limfocitare umane în amestec (MLC) se poate extrage un sistem enzimatic, lipsit de celule, sensibil la tripsină şi dezoxiribonuclează, care realizează sinteza unui material ce înglobează (^{3}H)-dATP în prezenţa unei matrice sensibilă la ribonuclează. Cea mai raţională cale de a explica aceste procese este de a le considera că exprimă o sinteză endogenă de DNA, prin

care materialul DNA sintetizat este transcris după o matrice RNA. Aceasta înseamnă că, la răspunsul imun ce are loc în culturile limfocitare în amestec participă procese transcripționale inverse, în care sînt implicate molecule de RNA ce servesc drept matrice pentru o sinteză de DNA nou, diferit de cel al genomului propriu al celulei imunocompetentă.

Implicarea *transcripției inverse* în răspunsul imun ar putea contribui la o mai simplă explicare a rolului RNA macrofagic în inducerea imunității.

După cum se știe (Baltimore, 1970 ; Temin și Mizutani, 1970), activitatea polimerazei DNA dependentă de RNA implică un mecanism prin care un RNA structural (care poate fi viral, imunogen etc.) poate insera informația ce o deține într-un DNA genomic al unei celule străine. Faptul că în celulele stimulate ce participă la răspunsul imun au fost puse în evidență activități transcriptazice inverse sugerează că — prin intermediul acestei enzime — un RNA imunogen (care nu trebuie să aibă calități de RNA mesager) poate insera informația imunogenă pe care o deține în genomul celulei imunocompetentă în care a fost acceptat. Acest „transfer intracelular de informație imunogenă" poate contribui atît la explicarea caracterului ne-mesager al RNA imunogen, cît și la reprezentarea memoriei imunologice ca o rezultantă a inserției unor noi loci informaționali în cromosomii unor limfocite (Păunescu și Dănălache-Dumitrescu, 1976).

Răspunsul imun din culturile limfocitare amestecate este sensibil la rifamicine (Păunescu, 1970 ; Păunescu și Dănălache-Dumitrescu, 1976). Aceasta sugerează odată în plus existența unei corelații directe între sinteza de DNA dependentă de RNA și reacțiile de răspuns imun, precum și posibilitatea ca la procesul imunogen să participe molecule de RNA imunogen, care — transferate unei celule limfoide virgine — va induce sensibilizarea specifică a acesteia.

O astfel de ipoteză este susținută și de lucrările care au demonstrat că sinteza de anticorpi specifici poate fi indusă prin transfer de RNA informațional de la celule donatoare stimulate antigenic la limfocite virgine (Jachertz, 1971 ; Bell și Dray, 1971). Procesul este independent de transcripția directă (mediată de polimeraza RNA dependentă de DNA), dar este dependent de transcripția inversă (mediată de polimeraza DNA dependentă de RNA), deoarece prezența derivaților de rifamicină blochează inducerea sintezei de anticorpi prin transfer de RNA informațional (Păunescu, 1980).

Recunoașterea imună a unui antigen este un proces complex, la care participă atît macrofagele, cît și limfocitele. Macrofagelor le revine rolul esențial în recunoașterea „timpurie" a antigenului așa cum rezultă și din faptul că acele antigene care sînt legate de macrofage devin bune imunogene, în timp ce antigenele solubile, nefixate pe macrofage, duc de obicei la dezvoltarea toleranței (Unanue, 1970). Macrofagele activate cu antigen dovedesc capacitatea de a atrage și de a fixa limfocite mici care, ulterior, proliferează și formează plasmocite secretoare de anticorpi specifici (Unanue și Calderon, 1975).

Rolul macrofagelor în recunoașterea antigenului și în dezvoltarea răspunsului imun a fost demonstrat și în cazul imunității mediată celular, constatîndu-se că pentru inducerea de limfocite T citotoxice în

MLC este indispensabilă prezenţa macrofagelor (Ritter şi colab., 1975). Adăugarea de ser antimacrofagic blochează proliferarea celulelor T şi nu permite diferenţierea de limfocite T citolitice (v. cap. III, C).

Pentru iniţierea răspunsului imun este suficient contactul dintre limfocite şi macrofagul ce a fixat antigenul, cu condiţia ca celulele să fie histocompatibile. Cu macrofage semialogene, nivelul de stimulare a limfocitelor se reduce la jumătate.

Iniţierea răspunsului imun necesită prezenţa macrofagelor, fapt demonstrat *in vitro* pentru toate tipurile de răspuns imun, şi anume: răspunsul prin producere de anticorpi faţă de antigene timus-dependente (Mesier, 1967), ca şi faţă de antigenele timus-independente (Chused şi colab., 1976); transformarea celulei T stimulată prin antigene comune, prin aloantigene şi mitogeni (Wood, 1977); producerea de limfokine (Wahl şi colab., 1975); generarea de celule T citotoxice (Wagner şi colab., 1972).

Mecanismul sau mecanismele prin care macrofagele contribuie la iniţierea răspunsului imun nu sînt în totalitate clarificate. Este indiscutabilă corelaţia dintre preluarea, fixarea şi procesionarea parţială a antigenului de către macrofage, de pe o parte, şi iniţierea răspunsului imun, pe de altă parte. Dar există şi numeroase alte date care sugerează participarea şi a altor elemente şi procese macrofagice la declanşarea răspunsului imun.

S-a sugerat (Wood, 1977), spre exemplu, că enzimele hidrolitice lizosomale, stimulate şi liberabile de macrofage în urma procesului de fagocitare a antigenului, pot stimula limfocitele; această ipoteză se bazează pe datele experimentale (Giesler şi colab., 1976) care au evidenţiat că sub acţiunea mai multor hidrolaze (tripsină, chimotripsină, pronază, elastază) are loc stimularea transformării limfocitelor şi producere de anticorpi.

O activitate similară pare să prezinte filtratele culturilor de macrofage, care sînt capabile să înlocuiască rolul mediator al macrofagelor în culturile limfocitare amestecate (MLC) (Bach, 1978).

Erb şi Feldmann (1975) au descris un factor genetic şi un alt factor macrofagic nespecific, încă insuficient caracterizaţi, care sînt capabili să faciliteze diferenţierea timocitelor în limfocite T ajutătoare.

Un alt grup de factori secretaţi de macrofage şi care sînt implicabili în iniţierea răspunsului imun sînt componentele C1q, C2, C3 şi C4 sintetizate şi eliberate de monocite (Colten, 1976). Dintre acestea, componenta C3 a fost demonstrată ca participînd la iniţierea răspunsului imun (Dukor şi Hartman, 1973).

Este evident că o serie de produse secretate de macrofag pot modula iniţierea răspunsului imun. Majoritatea acestor factori pot fi consideraţi ca „monokine" (Wood, 1977).

Rolul monokinelor în iniţierea răspunsului imun, explicit sugerat de datele menţionate, trebuie restrîns la o categorie mai mică de produse secretate de macrofage. Pe de o parte este evident că nu orice monokină deţine *in vivo* un rol imunoreglator; pe de altă parte, neexistînd dovezi că toate monokinele sînt produse de o singură celulă, este probabil că unii dintre aceşti factori sînt eliberaţi de anumite subclase specializate de macrofage.

Dintre monokinele a căror participare la inițierea răspunsului imun a fost bine argumentată trebuie citat *factorul activator al limfocitelor*, descoperit de Gery în 1972 și parțial purificat și studiat ulterior (Gery și Handschumacher, 1974). Această monokină este o proteină cu G.M. 15 000, sensibilă la chimotripsină, care este secretată de macrofage umane și de macrofagele peritoneale și splenice de șoarece. Are proprietatea de a stimula transformarea timocitelor și limfocitelor T periferice, în prezența antigenului, realizînd inițierea răspunsului imun.

O altă monokină, denumită *factorul activator al limfocitelor B*, este capabilă să stimuleze apariția celulelor producătoare de anticorpi în culturi de celule lipsite de limfocite T. Acest factor a fost inițial identificat de Schrader (1973) în supernatantul macrofagelor peritoneale de șoarece, iar activitatea biologică a supernatantului a fost testată în culturi de splenocite de la șoareci atimici (șoareci „nude") stimulate cu gammaglobuline de găină. Wood (1977) a obținut un factor similar din macrofage umane (monocite aderente și cu capacități fagocitare, stimulate cu endotoxină). Stimularea limfocitului B prin această monokină se realizează și în absența celulelor T ajutătoare, însă limfocitele B stimulate prin factorul macrofagic sînt diferite de cele stimulate de celulele T funcționale (Wood, 1977). Întrucît experiențele au fost întreprinse în culturi de limfocite de la șoareci „nude", care nu conțin celule T funcționale, dar pot conține celule T imature, nu se poate exclude ipoteza că factorul macrofagic activator al limfocitelor B poate funcționa prin „activarea" celulelor T nefuncționale (imature). Este de asemenea posibil ca această monokină să acționeze direct pe limfocitul B, dar simultan cu celula T.

Activitatea efectoare a macrofagelor este evidentă în infecțiile cu germeni patogeni, unde se dovedesc capabile să distrugă agentul invadant. Această activitate este dependentă de un stimul specific declanșat de limfocitele sensibilizate la antigenul respectiv. Asemenea limfocite T sensibilizate secretă mediatori farmacodinamici *(limfokine)*, dintre care unii activează macrofagele (v. cap. II, A). Astfel, factorul inhibitor al migrării macrofagelor a fost găsit că, în afara efectului de imobilizare, exercită acțiuni multiple asupra macrofagelor (David, 1975), și anume: le mărește aderența, activează mișcarea valurilor membranei, intensifică oxidarea glucozei, mărește numărul de granule lizosomale, amplifică potențialul bactericid și activitatea tumorocidă a macrofagelor (Păunescu, 1980).

Dealtfel, așa cum a arătat Mackaness (1969) într-o serie de experiențe inițiale, macrofagele provenite de la animale cu infecții cronice (tuberculoză, listerioză) sînt net mai eficiente antibacterian decît cele normale: ele omoară rapid bacteriile care constituie agentul cauzal al infecției. Activarea macrofagelor nu este un proces imunologic strict specific, deoarece macrofagele provenite de la un organism cu infecție tuberculoasă sînt bactericide și față de alți germeni, neînrudiți cu bacilul tuberculozei, ca și față de celule tumorale sau alte celule „non-self" (ca cele de transplantare). În toate aceste cazuri, *activarea* macrofagelor s-a realizat prin intermediul mediatorilor eliberați de limfocite sensibilizate (Păunescu, 1980).

Activarea macrofagelor poate fi obținută și sub acțiunea — *in vivo* sau *in vitro* — a unor variate substanțe (endotoxină, zimosan, agar, tio-

glicolat, sulfat de dextran, pereţi celulari de streptococ grup A etc.), toate avînd şi capacitatea de a activa sistemul complement pe calea alternativă. Dacă însă administrarea unor astfel de substanţe se efectuează la un organism în prealabil decomplementat, atunci nu mai are loc activarea macrofagelor (Pepys, 1978), ceea ce pledează pentru implicarea sistemului complement în procesul de activare a macrofagelor. În acelaşi sens, s-a observat — *in vitro* — că macrofagele pot fi activate dacă sînt incubate fie cu ser sanguin în care complementul a fost în prealabil activat, fie direct cu componenta activă C3b; în schimb, serul decomplementat nu poate activa macrofagele (Păunescu, 1980).

Macrofagele activate manifestă o puternică intensificare a capacităţilor bactericidă şi citocidă antitumorală, concomitent cu creşterea sintezei de hidrolaze acide lizosomale, cu secreţia de proteaze neutre (care amplifică procesul inflamator local), şi cu accentuarea consumului de oxigen şi a producerii de superoxizi.

Complexitatea proceselor de activare a funcţiei fagocitare a macrofagelor la mamifere şi la alte organisme ce posedă sistem limfocitar evidenţiază, sub aspect filogenetic, perfecţionarea şi specializarea selectivă a funcţiei endocitare de bază a celulei. Macrofagul devine, la mamifere, o celulă înalt diferenţiată şi specializată atît pentru captarea corpilor străini din organism, cît şi pentru recunoaşterea determinanţilor antigenici, ceea ce antrenează participarea acestor celule la procesele de supraveghere imună (v. cap. III, G), la cooperarea necesară declanşării producerii de anticorpi (v. cap. III, A şi II, E), la exprimarea hipersensibilităţii întîrziate (v. cap. III, D) etc.

D. *Antigenele*

În sensul clasic al termenului, antigen este orice substanţă capabilă să inducă formarea de anticorpi şi să reacţioneze specific cu aceştia. Această definiţie trebuie însă completată prin includerea proceselor imune care sînt declanşate de antigene, dar nu implică participarea anticorpilor (de exemplu, hipersensibilitatea celulară), precum şi a proceselor care conduc la toleranţă imună şi care de asemenea sînt induse de antigene.

În sensul larg al termenului, prin antigene trebuie înţelese acele substanţe care pot induce un *răspuns imun*, adică rezultanta unui complex de procese biologice care includ proliferarea limfocitară şi sinteză de receptori moleculari şi/sau celulari pentru antigenul respectiv.

De obicei fiecare moleculă de antigen are mai multe configuraţii sterice care pot fi complementare situsurilor de combinare ale moleculelor de anticorp şi care sînt definite ca *determinanţi antigenici*.

Conform definiţiei acceptată, molecula de antigen participă la două procese relativ independente: *(a)* iniţierea producerii de receptori moleculari (anticorpii) şi/sau celulari (limfocite sensibilizate); *(b)* realizarea reacţiei dintre antigen şi receptorii specifici. Fragmentele de antigen care deţin determinanţi antigenici specifici (aşa-numitele *haptene*) participă efectiv la reacţia cu anticorpii, dar nu pot iniţia producerea acestora nici chiar în prezenţa unui adjuvant. Pentru a putea induce producerea de anticorpi — şi a deveni astfel substanţă *imunogenă* — o haptenă trebuie să

fie legată covalent de o moleculă mai mare, care îndeplineşte astfel funcţia de *purtător* al haptenei. În cazul reacţiei cu anticorpii, partea din molecula antigenică ce deţine specificitatea este haptena ; în cazul reacţiei cu receptorii limfocitului sensibilizat (spre exemplu în hipersensibilitatea întîrziată), specificitatea revine întregii molecule imunogene, purtătorul dezvoltînd şi el reacţii, dar mai reduse, iar haptena fiind lipsită de capacitatea de reacţie.

În doze mari, unele antigene pot induce toleranţă imună ; acestea sînt definite ca *tolerogene*.

Imunogenicitatea unui antigen depinde atît de structura chimică a moleculei sale, cît şi de alţi factori, printre care cei mai importanţi sînt :

a) *Doza administrată*. Dozele mici stimulează producerea de anticorpi cu înaltă specificitate şi afinitate puternică, cum sînt anticorpii IgG la cobai şi cei IgE la om, responsabili de hipersensibilitatea imediată. Aceleaşi doze mici de antigen stimulează eficient şi celulele T de memorie, astfel că acestea se pot dezvolta chiar în absenţa unor anticorpi circulanţi detectabili sau a unor manifestări de imunitate mediată celular. Micimea dozei de antigen capabilă să manifeste imunogenitate depinde însă, în ultimă instanţă, de structura chimică a moleculei antigen ; astfel, la rozătoare, doza minimă care poate declanşa producere de anticorpi este de 10^{-11} mg pentru endotoxină şi de 10^{-1} mg pentru albumina serică bovină.

b) *Calea de administrare* poate influenţa mult imunogenitatea tuturor sau unora dintre substanţele antigenice. Astfel, spre exemplu, calea perorală este de evitat din cauza degradării enzimatice gastrointestinale a antigenului. În schimb, calea intraperitoneală este adesea cea mai recomandabilă, deoarece antigenul poate veni rapid în contact cu celulele imunocompetente din ganglionii limfatici regionali, fiind asigurată o bună resorbţie a antigenului. Căile intradermică, subcutanată şi intramusculară, ca şi cea intravenoasă, dau de asemenea rezultate satisfăcătoare pentru majoritatea antigenelor. Anumite căi de administrare sînt însă singurele accesibile pentru anumite antigene, cum este cazul poli-D-alaninei, imunogenă la iepure numai pe cale intradermică, sau cazul alergenelor, pentru care calea respiratorie este cea de preferat.

c) *Specia animală* poate limita imunogenitatea antigenelor. Astfel, un acelaşi antigen poate dezvolta cu uşurinţă reacţii de hipersensibilitate întîrziată la cobai şi mult mai dificil la şoarece. De asemenea, în funcţie de specie, unele substanţe pot fi imunogene şi altele nu, limitarea fiind determinată de structura genetică a speciei.

Există de asemenea o *specificitate de specie* şi chiar *de organ*, care influenţează imunogenitatea unei substanţe şi care evidenţiază că un antigen obţinut dintr-un organism anumit este cu atît mai imunogen cu cît individul căruia i se administrează aparţine unei specii mai îndepărtate. Din acest punct de vedere, antigenele pot fi clasificate ca *eteroantigene* (cu imunogenitate între specii), *aloantigene* (cu imunogenitate între grupuri de indivizi ai unei aceleiaşi specii) şi *autoantigene* (cu imunogenitate pentru alte organe sau teritorii ale unui acelaşi organism). În noţiunea de autoantigen sînt incluse de unii autori (Bach, 1978) şi markerii antigenici de pe limfocite T (antigenele Lyt, Thy 1, LT etc.), deoarece se pot identifica cu precădere într-un anumit organ, ţesut etc., fiind susceptibili de a iniţia, în anumite condiţii, producerea de autoanticorpi.

Unele *antigene*, denumite *heterofile*, sînt prezente simultan la specii foarte variate. Acesta este cazul *antigenelor Forssman*, care sînt prezente pe eritrocitele unui mare număr de specii (oaie, capră, cal, cîine, cobai), ca şi la unele microorganisme (Mesrobeanu şi Păunescu, 1968); ele sînt însă absente la iepure şi bou, iar la om sînt prezente numai la indivizii cu grup sanguin A şi AB.

d) *Administrarea în asociere*. Dacă două sau mai multe antigene sînt administrate simultan, atunci are loc un efect sinergic asupra producerii de anticorpi. Dacă însă administrarea se face la cîteva zile interval, atunci are loc o „competiţie antigenică", răspunsul la antigenul administrat la urmă fiind mult scăzut.

Administrarea antigenului împreună cu un *adjuvant imunologic* creşte răspunsul imun, ca urmare a stimulării amplificate a limfocitelor B şi T şi a macrofagelor.

Administrarea în asociere a dobîndit un rol practic deosebit în cadrul acţiunilor de vaccinare profilactică sau terapeutică.

Principalele categorii de substanţe antigenice. Antigenele pot fi grupate după mai multe criterii: după origine, se pot deosebi antigene virale, bacteriene, parazitare, nucleare, citoplasmice, de membrană, de plante, mamifere etc.; sau: antigene naturale, antigene sintetice sau semi-sintetice (artificiale); după structura lor, se pot deosebi antigene proteice, polizaharidice, lipidice, nucleinice etc.

Antigenele proteice sînt cele mai numeroase deoarece practic orice polipeptid cu o talie suficient de mare (peste 1 000 daltoni) este imunogen. Capacitatea lor imunogenă creşte proporţional cu greutatea moleculară. Agenţii fizici (căldura), chimici (aldehide) sau enzimatici (proteaze) de obicei modifică specificitatea antigenică a unei proteine, antrenînd adesea şi o reducere a imunogenităţii lor.

Dintre antigenele proteice mai des utilizate în studiile de imunologie trebuie amintite lizozimul şi ribonucleaza ale căror structuri primare (secvenţa aminoacizilor), secundare şi terţiare sînt cunoscute. *Lizozimul* conţine un singur lanţ polipeptidic constituit din 129 aminoacizi, avînd G.M. = 14 500 daltoni şi prezentînd doi determinanţi antigenici principali: unul, amplasat între aminoacizii din poziţiile 57—107 şi realizînd circa 12% din specificitatea moleculei; al doilea, asigurînd 50% din specificităţi, include aminoacizii din poziţiile 7—27 şi 122—129 (Sela, 1974). *Ribonucleaza* conţine 124 aminoacizi şi are G.M. = 14 000. Sub acţiunea unei proteaze speciale, subtilizina, molecula de ribonuclează este clivată în două fragmente inegale: „peptidul S", conţinînd primii 20 aminoacizi, şi „proteina S", corespunzînd poziţiilor 21—104; ambele fragmente pot neutraliza anticorpii anti-RNA-ază, fără ca vreunul din ele să fie şi imunogen. În schimb, dacă molecula de ribonuclează este în prealabil oxidată (cu acid performic) şi apoi scindată enzimatic, peptidele ce corespund poziţiilor 38—61 şi 105—124 sînt nu numai blocante pentru anticorpi, dar şi imunogene (Weir, 1973). Această constatare, obţinută cu o substanţă lipsită de tirozină (cum este ribonucleaza oxidată), demonstrează că nu se poate corela imunogenitatea unui antigen de prezenţa în moleculă a unor aminoacizi speciali, aşa cum s-a presupus în trecut.

Antigenele polizaharidice prezintă unele calităţi particulare, printre care faptul că, pentru a fi imunogene, trebuie să se prezinte cuplate cu

alte structuri chimice (acesta este cazul lipopolizaharidului obținut din endotoxina bacteriilor Gram-negative, al polizaharidelor pneumococice, al glicoproteinelor celulare etc.). Polizaharidele sînt însă foarte eficiente haptene și, în cazul unui mare număr de substanțe naturale sau artificiale, asigură specificitatea antigenică.

Diversitatea structurală a polizaharidelor provine dintr-o serie de modificări chimice, frecvent întîlnite, ale moleculei: unitatea ozidică poate fi înlocuită prin funcții alcool simple sau multiple (glicerol, ribitol), care, la rîndul lor, pot fi substituite prin metil, acetil, amino, acetilamino; ele pot fi reduse (dezoxizaharuri) sau oxidate (acizi uronici), pot prezenta izomeri D și L sau poziții anomere alfa ori beta la anumite legături, pot prezenta ramificații ale polimerului axial (dextrani, levani) etc. (Mesrobeanu și Păunescu, 1968).

Specificitatea haptenică a polizaharidelor este adeseori determinată de un anumit *zahar imunodominant* (Sela, 1974). În acest sens pledează faptul că polizaharidul specific de grup AB este coprecipitabil de seruri anti-A și anti-B, sugerînd existența ambelor specificități A și B pe același poliozid. Rezultate analoge s-au obținut la salmonele, unde se poate demonstra existența mai multor determinanți antigenici pe același lanț polizidic. Dacă însă reacțiile de inhibiție imună se execută cu cantități egale din fiecare zaharid component al poliozidului, se observă că unul din zaharuri inhibă mai bine decît ceilalți. Acest zahar „imunodominant'' este amplasat de obicei la capătul lanțului lateral, așa cum este cazul glucozei în structura factorului 1 la *Salmonella*; uneori, însă, zaharul imunodominant poate fi localizat în interiorul polimerului, așa cum este cazul acidului glucuronic în polizaharidul pneumococic S-III.

Studiile la iepuri, întreprinse în special de Kabat și colaboratori, au evidențiat însă că zaharul imunodominant este în multe cazuri dependent, în ceea ce privește reactivitatea sa, de încă cel puțin un alt zahar, cu care este legat. În acest sens, s-a observat că două poliozide de *Salmonella* care aveau lanțuri glucozidice laterale identice, dar care nu erau fixate pe un același carbon galactozic, nu produc reacții serologice încrucișate. Această constatare explică pe de o parte de ce două poliozide care au lanțuri laterale neidentice dar legate identic pot da reacții încrucișate, și, pe de altă parte, de ce un zahar imunodominant legat de o proteină (purtător) nu induce anticorpi reactivi și cu poliozidul ce conține respectivul zahar imunodominant.

Antigenele lipidice sînt constituite din lipide cuplate fie cu proteine, fie cu poliozide (lipidele pure nu sînt imunogene). Molecula lipidică deține rol de haptenă; spre exemplu, se pot obține anticorpi antilecitină, anticefalină, anticolesterol etc.

Antigenele nucleice sînt presupuse a se manifesta în anumite boli cu componentă imună, cum este lupusul eritematos sistemic (v. cap. VII, C), unde se pot identifica anticorpi anti-DNA. Pentru producerea experimentală de anticorpi anti-acizi nucleici s-au imaginat metode de cuplare a acizilor nucleici cu o proteină (spre exemplu, albumina serică metiată poate lega necovalent, prin punți electrostatice, acizii nucleici fără

denaturare ; asemenea conjugaţi antigenici, inoculaţi în adjuvant Freund complet, pot induce anticorpi anti-DNA, anti-RNA sau anti-polinucleotidici.

Antigenele artificiale sînt folosite pentru studiile de detaliu privind substratul chimic al specificităţii şi imunogenicităţii. Asemenea antigene artificiale se obţin prin cuplarea la proteine a unor polipeptide sintetice (cu structură variată după dorinţă), a unor grupări haptenice speciale (dinitrofenol = DNP, trinitrofenol = TNP, dinitroclorbenzen = DNCB), a unor oligozaharide etc.

Utilizarea polipeptidelor sintetice pentru studii imunologice a permis obţinerea unui număr important de date privind caracterele chimice structurale de care depinde imunogenitatea unei substanţe. Astfel :

a) Polipeptidele sintetice sînt imunogene cînd greutatea lor moleculară depăşeşte 4 000 daltoni. Există însă şi excepţii : oligolizina este imunogenă cînd are cel puţin 10 molecule de aminoacizi, iar derivaţii DNP la numai 7 molecule.

b) Homopolimerii ce conţin un singur tip de aminoacid nu sînt de obicei imunogeni. Excepţie fac polimerii de L-prolină, L-glutamină, L-arginină şi L-lizină care sînt slabi imunogeni pentru cobai şi iepure. Nici copolimerii ce conţin doi aminoacizi nu sînt de obicei imunogeni, mai ales la şoarece şi om. În schimb, polimerii ce conţin trei sau mai multe feluri de aminoacizi sînt imunogeni buni pentru toate speciile. Imunogenicitatea este intensificată de prezenţa aminoacizilor aromatici.

c) Inversarea secvenţei a doi aminoacizi poate afecta nu numai specificitatea polipeptidului, dar chiar şi imunogenicitatea sa (Sela, 1974). Astfel, secvenţa Tyr-Glu este imunogenă numai cînd este localizată la capătul terminal al lanţurilor laterale sau în interiorul unora dintre aceste lanţuri.

d) Structurile secundare şi terţiare ale polimerului nu influenţează imunogenicitatea, dar sînt determinante pentru specificitatea antigenică. Dealtfel, structura determinanţilor antigenici nu contribuie decît rareori la imunogenicitate.

e) Configuraţia optică D-L a aminoacizilor prezenţi în polimer este importantă : polimerii L sînt imunogeni foarte buni, în timp ce polimerii D sînt slabi imunogeni dar buni tolerogeni ; prezenţa în molecula peptidului a unei cantităţi de numai 5% D-aminoacizi pe lanţurile laterale reduce practic imunogenicitatea moleculei, în timp ce plasarea D-aminoacizilor pe peptidul axial este lipsită de influenţă.

f) D-peptidele, slab imunogene, se comportă ca *antigene timus-independente*, în timp ce L-peptidele induc răspuns de tip timus-dependent. Peptidele enantiomeri, de formă LD, DL şi LL sînt timus-independente (Sela, 1974). Între polimerii D şi L nu au loc reacţii încrucişate, chiar dacă au secvenţe identice ale moleculelor.

g) Din punct de vedere chimic şi *antigenele timus-independente* naturale au o structură repetitivă a determinantului lor antigenic (tabelul nr.3), care apare determinantă pentru capacitatea de a stimula limfocitele B în absenţa limfocitului T ajutător. Aceasta rezultă şi din faptul că degradarea structurii repetitive transformă antigenele timus-independente în antigene timus-dependente.

Tabelul nr. 3

Principalele antigene timus-independente naturale

Antigenul	Structura repetitivă	Greutatea moleculară
Lipopolizaharidul endotoxinei 0 (LPS)	Oligozaharid	10^7
Polizaharid pneumococic (S—III)	Acidul glucozo-glucuronic (acid celobiuronic)	2×10^7
Flagelina polimerizată (POL)	Proteică	10^7
Levan nativ (LE)	Fructoza	2×10^7

h) Între condițiile de imunogenitate ale unui antigen și tipul de răspuns imun pe care îl declanșează nu există o concordanță. O contribuție importantă la elucidarea acestor fenomene au adus studiile lui Schlossman (1972), care a folosit drept antigene polimeri de lizină, conjugați sau nu cu DPN, pe care i-a inoculat la cobai și a testat apoi producerea de anticorpi (fenomen Arthus) și de limfocite T sensibilizate (hipersensibilitate întîrziată). Rezultatele obținute au arătat că, pe cînd un polimer de L-lizină este imunogen numai cînd conține cel puțin 8 molecule de lizină, dacă L-lizina este cuplată cu DPN, atunci conjugatul α-DNP-tri-L-lizina (sau α,DNP-Lys 3) este capabil să inducă producere de anticorpi, iar conjugatul cu 7 molecule de L-lizină (α, DNP-Lys 7) poate induce atît producere de anticorpi, cît și instalarea stării de hipersensibilitate întîrziată.

Polimerii cu 8, 9,... molecule de L-lizină sînt de asemenea imunogeni și pentru producerea de anticorpi, ca și pentru hipersensibilitatea întîrziată. Dacă în acești polimeri se introduce o moleculă de D-lizină la o extremitate (de ex : α, DNP-L_7DL sau α,DNP-LDL_7), nu au loc modificări ale imunogenicității ; în schimb, introducerea aceleiași molecule de D-lizină în mijlocul polimerului L-lizinic (de ex : α,DNP-L_4DL_4) duce la abolirea imunogenicității pentru hipersensibilitatea întîrziată.

A fost observată și situația inversă, în cazul conjugatului dintre azobenzen arsonat și tirozină (5 ABA-Tyr), cu G.M. = 409, care stimulează numai reacțiile de hipersensibilitate întîrziată, fără a putea induce producerea de anticorpi.

Aceste date sugerează că recunoașterea determinantului antigenic (oligolizină) de către limfocitul T și/sau B este mai importantă decît poziția sa haptenică sau decît tipul de legare a determinantului.

Determinanți antigenici similari sau identici pot induce atît producerea de anticorpi cît și hipersensibilitatea întîrziată (cel puțin în cazul sistemului DNP-Lys). Dar, în timp ce pentru stimularea limfocitului B pare suficient ca limfocitul T să recunoască și să lege acel antigen care este recunoscut și de celula B, în cazul stimulării hipersensibilității celulare limfocitul T este capabil de un potențial de discriminare încă mai precis.

Un interes particular, atît sub aspect biologic general, cît și din punctul de vedere al practicii medicale, îl prezintă mai multe grupuri de antigene speciale, cum sînt cele de grup sanguin, de transplantare și cele tumorale.

Antigenele de transplantare sînt legate de sistemul major de histocompatibilitate (v. cap. I, E).

Antigenele de grup sanguin, produse în eritroblast, sînt detectabile pe suprafața membranei eritrocitare. Ele sînt genetic induse și sînt independente de aloantigenele de membrană : sînt produse de exprimare a activității genice fie direct, fie prin intermediul unor enzime, ca transferazele glicozilice ale grupului ABO. Produsele acestor gene sînt diferite și au fost grupate în sisteme ce corespund la diferite unități genice.

Substanțele de grup sanguin sînt antigenice și imunogene, fiind capabile să stimuleze producerea de anticorpi, proprietate care stă la baza proceselor de aloimunizare în cursul sarcinei sau transfuziilor.

Antigenele tumorale corespund structurilor particulare dezvoltate pe celulele tumorale, ca urmare a procesului de malignizare; ele nu sînt prezente la celulele normale similare, cu aceeași localizare și corespunzînd aceluiași stadiu de dezvoltare ontogenetică (v. și cap. XII, A).

Antigenele specific tumorale pot fi localizate intracelular, extracelular (antigene solubile) sau pe membrana celulei tumorale, această ultimă categorie fiind cea mai importantă din punct de vedere imunologic, deoarece organismul poate recunoaște asemenea antigene drept „non-self", dezvoltînd răspuns imun.

Multe antigene tumorale de suprafață au fost identificate ca *antigene de diferențiere*, reprezentînd structuri specifice ale membranei celulare dobîndite în timpul ciclului de diferențiere al celulei. Un exemplu în acest sens îl constituie antigenele TL de pe suprafața timocitului cortical, antigene care în mod normal dispar la limfocitul T matur, extratimic. În anumite forme de leucemie, asemenea antigene au fost identificate la suprafața limfoblaștilor leucemici.

Un alt caz de antigen de diferențiere îl constituie *antigenele carcinoembrionare*, care — în mod normal — sînt prezente numai pe celulele embrionare, într-un anumit stadiu de dezvoltare, fiind absente la adult. Reapariția lor pe celulele tumorale pare să fie foarte frecventă. Nu se cunoaște dacă antigenele carcinoembrionare contribuie direct la malignizare sau sînt numai o expresie a acesteia. Pe lîngă *α-fetoproteina* din tumorile hepatice primitive și antigenele carcinoembrionare din tumorile de colon și din alte manifestări maligne, la om au fost identificate asemenea antigene și în stări patologice nemaligne. Antigenele carcinoembrionare sînt slab imunogene, iar reacțiile de răspuns imun ale organismului purtător de tumoră sînt mult prea reduse pentru a putea induce rejecție.

Antigenele tumorale virale sînt puternic imunogene. Ele apar la suprafața celulelor malignizate ca urmare a infecției cu virusuri RNA sau DNA oncogene (adenovirusuri, polioma, SV 40, grupul virusurilor herpetice asociate limfomului Burkitt etc.). Antigenele virale tumorale sînt dependente de genomul viral și sînt identice pentru toate celulele infectate cu același virus, indiferent de localizarea lor. Asemenea antigene pot fi preparate în culturi de celule, devenind astfel posibilă realizarea de vaccinuri utilizabile în terapia sau chiar profilaxia acestor tumori.

Identificarea antigenelor specific tumorale este importantă atît din punct de vedere teoretic cît și practic. Exprimarea acestor antigene poate fi direct corelată cu anomalia care duce la transformarea malignă. O structură anormală a membranei celulare modifică relațiile dintre respectiva celulă și mediul înconjurător, antrenînd o alterare a proceselor de recunoaștere și semnalelor de recunoaștere. Concomitent aceste structuri alterate pot constitui ținta reacțiilor imune antitumorale prin care organismul este capabil să-și organizeze apărarea.

E. *Imunoglobulinele*

Anticorpii sînt molecule de imunoglobulină (Ig), sintetizate de limfocite B și de celule formatoare de anticorpi — plasmocitele — care rezultă prin diferențierea limfocitelor B stimulate de antigenul specific. Principala caracteristică a fiecărei molecule de Ig este capacitatea sa de a reacționa *specific*, cu un *anumit* antigen, față de care posedă o structură complementară *(situs de combinare)*. Reacția respectivă este însoțită de formarea unui *complex antigen—anticorp*, care poate fi pus în evidență deoarece fie că prezintă o stare de echilibru modificat și precipită, fie că acționează asupra celulei pe care este fixat și produce efecte biologice caracteristice (activare limfocitară, liberare de mediatori de tip histaminic, fixare și activare a complementului etc.). Printre efectele biologice caracteristice ale reacției antigenului cu molecula corespunzătoare de Ig, trebuie subliniat în primul rînd acela care induce transformarea blastică și proliferarea selectivă a limfocitului B ce poartă imunoglobulina ; efectul are ca rezultat formarea unei *clone de limfocite*, în care toate celulele sintetizează același tip de moleculă de Ig. Existența efectelor biologice induse de molecula de Ig ce reacționează cu antigenul arată că — în afară de situsul combinativ, care permite recunoașterea și fixarea antigenului — molecula de Ig prezintă încă cel puțin o altă zonă reactivă, prin care asigură inducerea efectelor biologice. Structura situsului de combinare trebuie să fie diferită de cea a situsului de efector, așa cum rezultă din faptul că pot fi identificați anticorpi cu specificitate comună, față de același antigen dar cu efecte biologice variate : aglutinanți sau citolitici, anafilactizanți, inductori de reacții de hipersensibilitate, capabili să activeze complementul, să pătrundă diaplacentar etc. Amplasarea distinctă, pe o aceeași moleculă de Ig, a situsului de combinare cu antigenul și, separat, a celui de efector, rezultă și din faptul că, în timp ce numărul de funcții efectoare (și deci diversitatea situsurilor efectoare) este limitat, numărul de antigene ce pot fi recunoscute și fixate (și deci diversitatea situsurilor de combinare) este extrem de mare, de ordinul a 10^7.

Aceste date au impus, încă de la început, recunoașterea unei accentuate *eterogenicități* (sau *polimorfism*) pentru moleculele de Ig (Gheție, 1975). Eterogenicitatea a fost dealtfel evidențiată inițial prin proprietățile fizico-chimice variate ale moleculelor Ig : greutate moleculară, coeficient de sedimentare, mobilitate electroforetică, precipitări cu variate săruri, cromatografie pe DEAE-celuloză, gel—filtrare etc. Aceste metode au permis caracterizarea anumitor categorii de molecule de Ig, denumite

izotipuri, şi au demonstrat că toţi indivizii unei specii conţin anticorpi aparţinînd anumitor izotipuri, bine definite, de molecule de Ig. La specia umană, de exemplu, a fost posibil să se identifice 10 izotipuri, aparţinînd următoarelor cinci *clase de Ig* : IgM, IgG, IgA, IgD şi IgE[15]).

Recunoaşterea antigenului de către moleculele de imunoglobuline *constituie un proces* parţial *degenerat*, în sensul că între o moleculă de antigen şi una de Ig nu există raportul simplu de 1 : 1. Cu alte cuvinte, postulatul conform căruia inocularea unui antigen Ag-1 ar induce sinteza anticorpului Ac-1 nu este valabil la nivel molecular. De cele mai multe ori, o moleculă antigenică conţine un număr *n* de determinanţi antigenici, ceea ce înseamnă că inocularea unei astfel de molecule va induce sinteza de *n* tipuri de anticorpi capabili să recunoască o aceeaşi moleculă din antigenul inoculat. Pe de altă parte, un acelaşi determinant antigenic poate fi recunoscut de mai multe molecule diferite de Ig, adică eterogenitatea anticorpilor reflectă mai mult decît eterogenitatea moleculelor de antigen.

Conform cu *teoria selecţiei clonale* (Burnet, 1959), eterogenicitatea moleculelor de Ig reflectă eterogenicitatea celulelor formatoare de anticorpi. Întrucît un antigen stimulează mai multe celule limfocitare, care vor da naştere, fiecare, la o clonă sintetizatoare de Ig-anticorpi, vor rezulta în final mai multe tipuri de anticorpi, formaţi de clone distincte, care să reacţioneze cu un acelaşi determinant antigenic. Şi cum un astfel de mecanism este aplicabil tuturor antigenelor cu care organismul poate veni în contact (estimate la un număr total de aprox. 10^7), rezultă că organismul poate produce un număr încă mai mare de tipuri diferite de Ig-anticorpi, corespunzătoare la un număr la fel de mare de clone limfocitare B, producătoare de anticorpi (Klinman şi colab., 1976).

O eterogenicitate accentuată a moleculelor de Ig a fost evidenţiată şi de caracterele antigenice ale acestor molecule proteinice, ca urmare a faptului că Ig sintetizate de un organism şi inoculate la un alt organism sînt recunoscute de acesta din urmă ca substanţe străine (non-self), ceea ce are drept rezultat producerea unei cantităţi decelabilă de anticorpi faţă de Ig administrată. Procedeele de imunizare cu Ig de la organisme diferite a permis să se evidenţieze prezenţa pe molecula de Ig a unor structuri cu calităţi antigenice, care constituie veritabili *markeri* ai tipului de moleculă respectivă. Astfel, în afara *markerilor izotipici*, care sînt comuni anticorpilor de la toţi indivizii unei specii, lucrările simultane ale lui Oudin, la iepure, şi cele ale lui Grubb, la om, au pus în evidenţă prezenţa de *markeri alotipici* care caracterizează moleculele de Ig ale unor grupe de indivizi din aceeaşi specie. Specificitatea markerilor alotipici se transmite ereditar, prin segregare de tip mendelian simplu, exprimînd alele codominante ale unui acelaşi locus autosomal.

Markerii izotipici şi cei alotipici caracterizează atît moleculele Ig normale, cît şi pe cele sintetizate selectiv, ca urmare a stimulului antigenic. Există însă un alt grup de determinanţi antigenici — aşa-numiţii *markeri idiotipici* (Oudin şi Michel, 1969) — care caracterizează numai moleculele de Ig-anticorp, aceşti markeri sînt rezultatul modificărilor structurale ale

[15]) Aceste denumiri sînt conforme nomenclaturii stabilită în 1972 de către O.M.S. Actualii termeni au înlocuit vechea nomenclatură, şi anume : γM,γG,γA,γD şi γE.

moleculei în vecinătatea situsului de combinare și ei sînt specifici pentru toate moleculele Ig aparținînd unei singure clone de limfocite stimulate antigenic (Jerne, 1976).

În ansamblu, problema eterogenității complexe a moleculelor de Ig a ridicat dificultăți importante pentru înțelegerea ei, dificultăți care includ nu numai aspectele fizico-chimice, biochimice, de structură și reactivitate imunologică, dar și aspecte genetice. Din punct de vedere genetic, este în ansamblu dificil de înțeles cum este posibil ca un număr atît de mare de particularități diferite să poată caracteriza o singură familie de proteine specifice. Variabilitatea deosebit de mare a moleculelor de Ig apare, într-adevăr, în opoziție cu procesele de selecție genetică ce tind să asigure conservarea unui caracter (sau, în orice caz, a unui număr redus de caractere). În acest sens, este demn de subliniat că, pînă în prezent, numai sistemul imun a ridicat astfel de probleme privind structura și evoluția moleculară.

Apare astfel evident că orice model structural privind molecula de Ig trebuie să țină seama nu numai de datele biochimice și de reactivitate biologică a acestor tipuri de molecule, ci și de elementele corespunzătoare de determinism genetic.

1. *Structura moleculei de Ig*

Capacitatea mecanismului de formare a anticorpilor de a produce molecule Ig cu situsuri de combinare complementare practic oricărei structuri moleculare cu dimensiuni între 5 și 34 Å (Kabat, 1976) a putut fi explicată atît în sens structural și biosintetic, cît și genetic.

Analiza structurală de detaliu a moleculelor de Ig a fost posibilă grație cantităților mari de Ig aparținînd unei singure clase, care sînt produse de organisme purtătoare de *mielom*, expresie a transformării maligne a unei clone de celule formatoare de anticorpi (Killander, 1967). Asemenea clone sintetizează și eliberează Ig în cantități foarte mari, care ajung să depășească 10 g/litru sînge, și care din punct de vedere chimic sînt perfect omogene și identice cu Ig normale. În multe cazuri, organismele purtătoare de mielom elimină urinar cantități importante de *proteină Bence-Jones*, antigenic înrudită cu Ig din ser, și care din punct de vedere chimic constituie o subunitate structurală a Ig mielomatoasă serică.

Cercetările inițiale, între 1950 și 1955, ale lui Putman și Porter, care au realizat identificarea aminoacizilor din segmentul terminal al IgG, au fost urmate de numeroase alte studii care au dus la *aprecierea structurii moleculei de IgG*, și la care o contribuție esențială au avut R.R. Porter și G. M. Edelman, răsplătiți în 1972 cu Premiul Nobel pentru medicină.

Studiile de bază au demonstrat că *moleculele de IgG* au cîte două situsuri de combinare identice, la care contribuie cîte 2 lanțuri polipeptidice, așezate simetric. Situsurile de combinare cu antigenul sînt amplasate în regiunea N-terminală (aminică), în timp ce capacitatea de fixare pe celule este localizată la capătul C-terminal (carboxilic) al moleculei de IgG (fig. 6). Fiecare moleculă, avînd o greutate de aprox. 150 000 daltoni,

poate fi desfăcută (în soluţii de uree 8M) în 4 lanţuri polipeptidice, din care — prin analiză cromatografică cationică (carboximetil-celuloză) — au fost identificate : două *lanţuri grele* γ (sau lanţuri *H*, de la engl. *heavy)*, cu G.M. = 50 000, şi două *lanţuri uşoare* (sau lanţuri *L*, de la engl. *light)*, cu G.M. = 23 000 ; într-o aceeaşi moleculă, ambele lanţuri L sînt de acelaşi tip antigenic, care pot fi *lambda* sau *kappa*. Lanţurile polipeptidice sînt legate între ele necovalent, prin legături disulfurice —S —S—, şi anume : cîte o singură asemenea legătură între un lanţ L şi unul H, şi cîte 2 legături —S — S— între cele două lanţuri H (fig. 6).

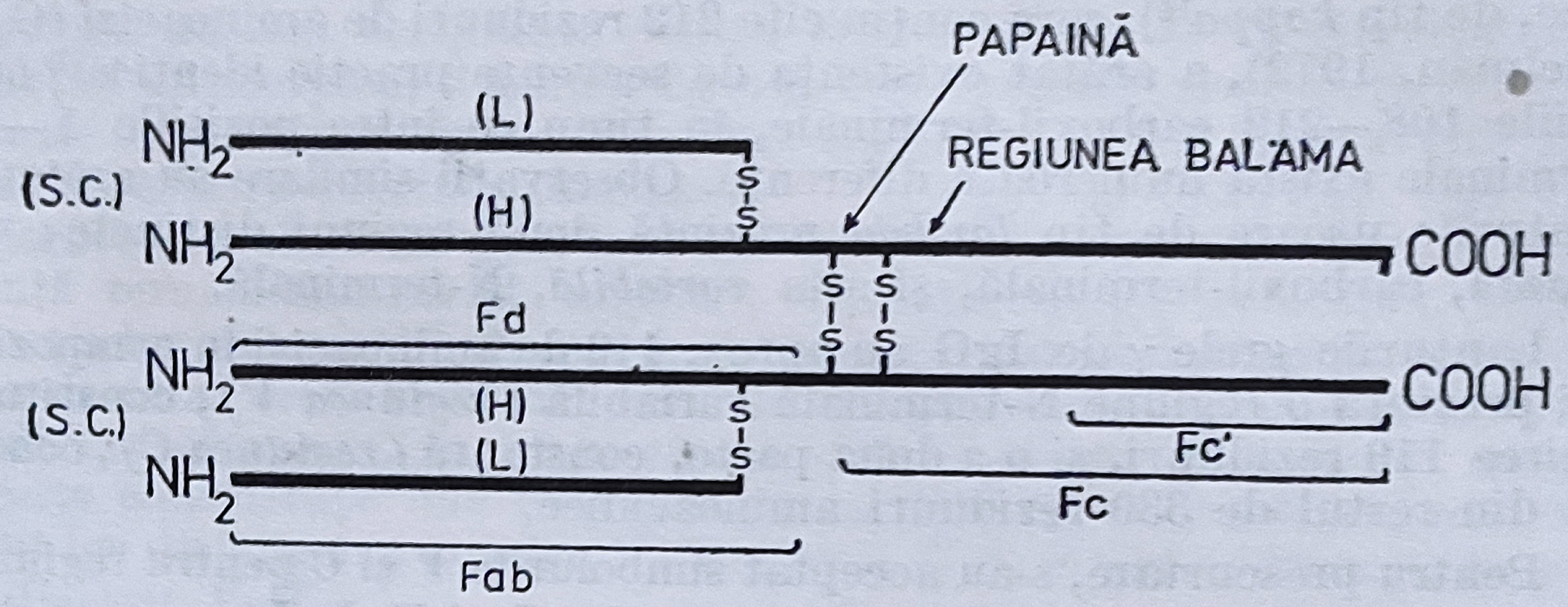


Fig. 6. — Modelul primar pentru structura IgG. (*S.C.*) — situs de combinare cu antigenul; (*L*) — lanţ uşor; (*H*) — lanţ greu.

Acţiunea enzimei proteolitice papaina duce la scindarea moleculei IgG în mai multe fragmente, şi anume : *(a)* două *fragmente Fab* identice (G.M. = 40 000), fiecare purtînd un situs de combinare şi conţinînd în totalitate un lanţ uşor şi o parte (denumită *fragmentul Fd)* din lanţul greu corespunzător ; *(b)* un *fragment Fc* (G.M. = 50 000), care conţine capătul N-terminal al moleculei de IgG şi corespunde restului din cele 2 lanţuri grele ce rămîn după clivarea fragmentului Fd.

Ca rezultat al hidrolizei papainice apar şi unele *fragmente Fc'*, care sînt similare cu fragmentul Fc, dar mai scurte (fig. 6). În cazul anticorpilor fixatori de complement, s-a constatat că acesta se fixează în regiunea alăturată locului de acţiune al papainei, denumită şi *regiune balama* (v. fig. 7 şi cap. II, F), pe lanţul greu.

Odată cu precizarea structurii de bază a moleculei IgG (fig. 6) a devenit posibilă abordarea studiilor de detaliu structural, începînd cu aranjamentul aminoacizilor în moleculă. Precizarea *secvenţei* aminoacizilor în fiecare lanţ polipeptidic permite cunoaşterea *structurii primare* a acestor molecule, de care depinde funcţia de anticorp a moleculei de Ig (Kabat, 1976), specificitatea sa şi, în ansamblu, diversitatea moleculelor de Ig.

În general, studiile privind secvenţa aminoacizilor utilizează într-o primă fază clivarea polipeptidelor, cu ajutorul bromurei de cianogen, la nivelul reziduurilor de metionină, care sînt relativ rare şi distanţate în moleculă. Se obţin astfel între 3 şi 12 fragmente pentru fiecare lanţ L sau H, care — la rîndul lor — se supun hidrolizei cu variate enzime proteolitice (tripsină, chimotripsină, pepsină, subtilizină, termolizină etc.).

Peptidele rezultate se separă prin metode fine obișnuite (cromatografie, gel—filtrare, electroforeză) și ordinea lor se precizează prin suprapunerea rezultatelor obținute prin două sau mai multe tipuri de hidroliză (Préval și Fourgereau, 1972). În prezent, analizele secvențiale se pot executa automat, folosind dispozitive puse la punct inițial de către Edman și Begg.

Prin stabilirea structurii secvențiale a lanțurilor H și L din diferite molecule de IgG și din compararea acestor structuri, s-a observat că între diferite poziții ale lanțurilor există diferențe importante și că pozițiile diferite se găsesc în mod dominant numai în primul segment al lanțului polipeptidic. Astfel, spre exemplu, analiza a două *proteine Bence-Jones* umane, de tip *kappa*[16]), care conțin cîte 212 reziduuri de aminoacizi (Gally și Edelman, 1972), a arătat existența de secvențe practic identice[17]) între pozițiile 108—212 carboxil-terminale, în timp ce între pozițiile 1—107 N-terminale există numeroase diferențe. Observații similare au arătat că și lanțurile ușoare de tip *lambda* prezintă două regiuni distincte : una *constantă*, carboxil-terminală, și alta *variabilă*, N-terminală.

Lanțurile grele γ de IgG au aprox. 440 de aminoacizi în compoziția lor și prezintă o regiune N-terminală variabilă *(regiunea V)*, constituită din circa 110 reziduuri, și o a doua parte, constantă *(regiunea C)*, constituită din restul de 330 reziduuri aminoacidice.

Pentru prescurtare, s-au acceptat simbolurile *V* și *C* pentru regiunile variabile și, respectiv, constante ale lanțurilor L și H de Ig, urmate de o a doua literă, care indică originea regiunii luată în discuție ; spre exemplu : V_L, V_H, V_γ, V_k, V_λ,. . .,C_L,C_H,C_γ,C_k,C_λ,. . .).

Studiile de secvență a aminoacizilor în lanțurile polipeptidice ale moleculei de Ig au arătat deci existența, pe un același lanț, a două regiuni : una constantă, practic identică pentru toate moleculele Ig de același izotip, și alta variabilă, cu secvențe ce diferă între moleculele IgG sintetizate de două sau mai multe clone limfocitare. Această *dualitate structurală a moleculei de Ig* are implicații importante : *(a)* constituie o evidență structurală a dualității funcționale a moleculei de Ig, respectiv funcțiile de recunoaștere a antigenelor sînt localizate în regiunile variabile, N-terminale, în timp ce funcțiile efectoare sînt legate de regiunea constantă, carboxil-terminală ; *(b)* presupune existența a cîte două gene diferite — una pentru regiunea variabilă, alta pentru cea constantă — destinate coordonării sintezei fiecărui lanț (L sau H). O asemenea situație (existența a două gene care să codifice un singur lanț polipeptidic) a apărut pentru prima oară în biologia moleculară cu ocazia precizării mecanismelor de sinteză a Ig.

Identificarea secvențelor complete din molecula de IgG umană (Edelman, 1973) a permis detalierea în continuare a cunoștințelor despre structura conformațională și spațială a Ig. A fost posibil, spre exemplu, să se confirme existența de grupări disulfurice—S — S—intralanțuri, și

---

16) Proteinele Bence-Jones sînt lanțuri ușoare de Ig, aparținînd izotipului *kappa* sau *lambda* (Gally și Edelman, 1972).

17) Cu excepția poziției 191 (unde se poate observa o permutare Val/Leu) și a poziției 153 (permutare Ala/Val), care corespunde *markerului alotipic Inv* (v. mai departe).

anume : 2 în fiecare lanț L, cîte una pentru cele două jumătăți amino- și, respectiv, carboxil-terminală, și 4 în fiecare lanț H, cîte 2 în fragmentul Fd și 2 în fragmentul Fc. Între legăturile disulfurice există cîte un număr de 65 —70 de aminoacizi, care formează o structură de tip ansă („buclă") față de axul principal al moleculei (fig. 7), așa cum rezultă și din studiile de analiză cristalografică cu raze X (Poljak, 1972). Între aceste *domenii* separate prin legături —S—S— există omologii interne ale structurii primare, care sînt de 2 tipuri : cele existente între regiunile V_H și V_L, pe de o parte, și cele care privesc regiunile constante (C_L, C_H din fragmentul Fd și cele 2 părți C_H ale fragmentului Fc), pe de altă parte. Cele mai remarcabile omologii au fost constatate pentru domeniile V_H și V_L (corespunzătoare funcției anticorpice) și pentru C_H și C_L (corespunzătoare funcției efectoare). Aceste date au permis lui Edelman (1973) să reia și să dezvolte ipoteza Hill anterioară privind „domeniile" V_L, C_L, V_H, C_H1, C_H2, C_H3 (fig. 7) separate și stabilizate prin legături disulfurice, care le asigură o independență termodinamică și, implicit, o independență evolutivă, legată de funcția lor biologică[18]. Procesele de evoluție par să fi selectat, independent una de alta, acele structuri care sînt responsabile de funcția anticorpică și de cea efectoare, cu toate că ele sînt prezente pe aceeași moleculă. Aceste considerații duc la concluzia că, sub aspect evolutiv, mai întîi a avut loc disjungerea genelor *V* din genele *C* și, ulterior, divergența genelor C_L/C_H sau V_L/V_H .

Modalitatea genetică de coordonare a sintezei regiunilor constante din molecula de Ig nu diferă de cea a altor proteine, spre deosebire de biosinteza regiunilor V ale lanțurilor polipeptidice H și L, care prezintă variații deosebite, și a cărei coordonare genetică ridică probleme speciale.

Regiunile constante ale lanțurilor H și L prezintă totuși anumite variații ale structurii lor primare (secvența aminoacizilor), care caracterizează anumite *clase și subclase de Ig* (izotipuri). Invers, și regiunile variabile, în pofida polimorfismului excesiv care caracterizează structura lor primară, prezintă unele zone constante — în particular în pozițiile 1 —8, 36 —47, 90 —98 și 103 —111 (Kabat, 1976) ; aceste secvențe, conservate în toate regiunile variabile (V_k, V_λ, și V_H) demonstrează existența, la origine, a unei gene unice de coordonare a biosintezei lor, genă care a suferit diversificări numeroase atît în cursul evoluției, cît și ca urmare a unor posibile mutații și recombinări somatice.

Cu ajutorul serurilor imune antiproteină mielomatoasă s-a putut preciza existența, la om, a *5 clase de Ig*, în funcție de structura diferită a

[18] Organizarea pe *domenii* a lanțurilor H și L din moleculele de Ig este rezultatul unui aranjament spațial particular, constituind structura „cuaternară" a moleculei. Domeniile sînt delimitate de grupările disulfurice intralanț, care realizează formarea de „bucle" ale lanțului polipeptidic (v. fig. 7). Aceste veritabile pseudounități, legate între ele prin scurte regiuni peptidice flexibile, constituie specificul de structură „terțiară" a moleculei de Ig și contribuie la realizarea structurii cuaternare. Domeniile organizate pe lanțurile polipeptidice formează perechi între ele : V_H cu V_L, C_H1 cu C_L, C_H3 cu C_H3 etc. Între domeniile pereche de pe lanțuri paralele se instituie interacțiuni necovalente, de tip trans. Asemenea interacțiuni nu se observă însă între domeniile amplasate pe un același lanț (V_H și C_H sau V_L și C_L etc.). O situație particulară s-a constatat în cazul domeniilor C_H2 și C_H3, și anume : în timp ce în perechea C_H2—C_H2 nu s-au evidențiat interacțiuni necovalente de tip trans, în cazul perechii C_H3—C_H3 interacțiunea trans are loc, iar între domeniile C_H2 și C_H3 de pe același lanț s-au pus în evidență interacțiuni necovalente de tip cis. Această complexitate de interacțiuni în cadrul structurii cuaternare asigură moleculei de Ig o flexibilitate specială (v. cap. II, F3).

lanţurilor grele. Celor 5 clase de Ig (anume : IgA, IgD, IgE, IgG şi IgM) le corespund 5 categorii de lanţuri H distincte : α, δ, ε, γ şi μ. Determinanţii antigenici ce caracterizează clasa de Ig sînt localizaţi în regiunile C ale lanţurilor H.

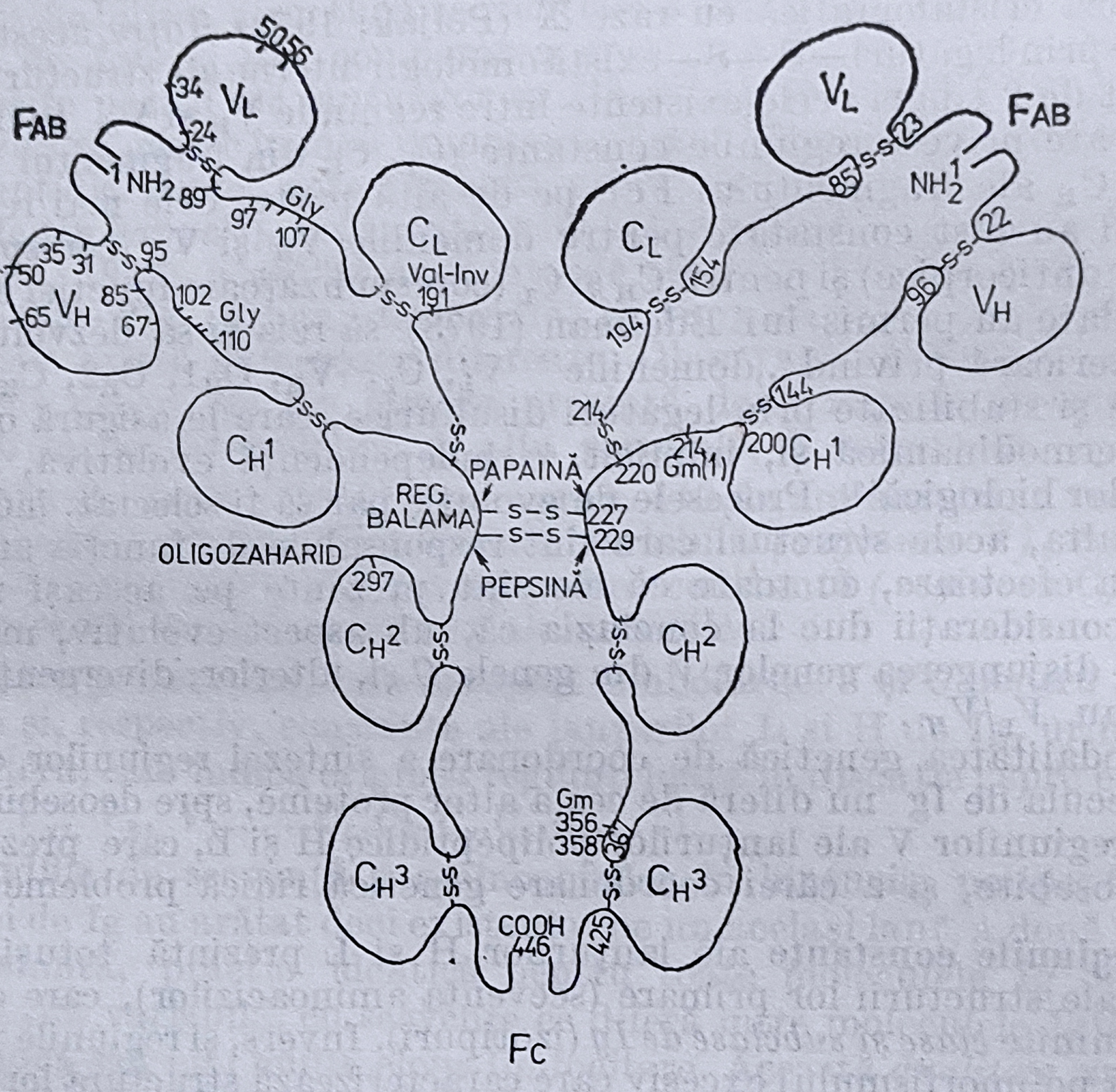


Fig. 7. — Structura schematică a IgGk umană (după Kabat, 1976, completată). V_L, V_H, C_H1, C_H2, C_H3 — domenii. Pentru alte detalii a se vedea textul.

Tot în funcţie de structura primară a regiunilor C ale lanţurilor grele, s-a constatat că fiecare clasă de lanţ H poate fi divizată în *subclase*, care caracterizează *subclasele de Ig*, şi anume : clasa IgG prezintă 4 subclase (IgG1, IgG2, IgG3 şi IgG4) ; clasa IgA are 2 subclase (IgA1 şi IgA2), iar clasa IgM are de asemenea 2 subclase (IgM1 şi IgM2) (tabelul nr. 4).

Subclasele IgG1 şi IgG4 au două punţi disulfurice între lanţurile grele, în timp ce IgG2 are 4, iar IgG3 are 5 legături —S —S— între lanţurile H.

Utilizarea de seruri imune anti-IgD a evidenţiat unele diferenţe antigenice între anumite molecule de IgD şi se consideră că şi în cazul acestor Ig există subclase (încă necatalogate).

În funcţie de structura regiunii C_L a lanţului uşor cu care se poate asocia fiecare clasă/subclasă de lanţ greu, se deosebesc *tipuri kappa* şi *lambda de Ig*. Datorită variaţiilor de structură primară ale regiunilor C_λ (vezi mai departe), lanţurile lambda definesc şi *subtipuri de Ig* : $\lambda 1$, $\lambda 2$ şi $\lambda 3$ (tabelul nr. 4).

Tabelul nr. 4

Principalele caracteristici de eterogenitate ale moleculelor Ig la om

Caracteristica moleculară	Localizarea marker	Clasa de Ig				
		IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
A. *VARIAŢII IZOTIPICE*						
Clasa de lanţ H	C_H	γ	α	μ	δ	ε
Greut. molec. a lanţ H		50 000	50 000	58 000	56 000	61 000
Subclase (după lanţul H)	C_H	IgG1-IgG4	IgA1 şi IgA2	IgM1 şi IgM2	?	—
Tipuri (după lanţul L)	C_L	k, λ	k, λ	k, λ	k, λ	k, λ
Greut. molec. a lanţ L		23 000	23 000	23 000	23 000	23 000
Subtipuri (după lanţul λ)	$C\lambda$	—	λ_1;	λ_2;	λ_3;	—
Formula moleculară a *izotipului*		$L_2\gamma_2$	$L_2\alpha_2$ sau $(L_2\alpha_2)_2$ CSJ^+	$(L_2\mu_2)_5J^+$	$L_2\delta_2$	$L_2\varepsilon_2$
Greut. molec. a izotipului		150 000	152 000 sau 385 000	900 000	175 000	190 000
Subgrupe: după lanţul L	V_L	— V_kI;	V_kII;	V_kIII şi	$V_\lambda I$;	$V_\lambda II$; $V_\lambda III$
după lanţul H	V_H	— V_HI;	V_HII;	V_HIII	—	—
B. *VARIAŢII ALOTIPICE*						
Alotipul: Inv	C_k	—	Inv 1;	Inv 2;	Inv 3	—
Gm	C_γ	Gm(1) 20)	—	—	—	—
Am	C_α	—	Am1,2	—	—	—
C. *VARIAŢII IDOTIPICE*						
Idiotip	V_H şi V_L	constant pe fragmentul Fv				

+ CS componentă secretorie; J=lanţ J.

Eterogenitatea limitată a regiunilor C_L şi C_H este rezultanta unor anumite modificări în secvenţa aminoacizilor, modificări decelabile atît prin analiză chimică, cît şi imunologică. Astfel de „markeri antigenici" au fost găsiţi, la *Ig umane*, pe lanţurile uşoare *lambda* şi pe lanţurile grele de IgG:

a) Markerii antigenici Kern (sau factor Kern) sînt amplasaţi pe C_λ în poziţia 154, unde prezenţa Gly dă caracterul de *Kern*$^+$, iar prezenţa Ser asigură caracterul *Kern*$^-$.

b) Markerii antigenici Oz sînt amplasaţi pe C_λ în poziţia 190, unde prezenţa Lys dă caracterul de *Oz*$^+$, iar prezenţa Arg asigură caracterul de *Oz*$^-$.

Cele două tipuri de markeri sînt prezente la toţi indivizii umani, în cazul tuturor lanţurilor *lambda*. Totuşi, codificarea lor nu este realizată de alele ale aceleiaşi gene, deoarece nu există decît 3 combinaţii posibile, şi anume: $Kern^+Oz^+$, $Kern^+Oz^-$ şi $Kern^-Oz^+$. Absenţa asociaţiei Ser 154 —Arg 190 (adică $Kern^-Oz^-$) pe un acelaşi lanţ deovedeşte că celelalte 3 combinaţii, întîlnite în practică, sînt codificate de 3 cistroni diferiţi.

Markerii antigenici Kern şi Oz definesc deci *trei subtipuri (sau variante izotipice)* de *lanţuri lambda*, şi anume:

λ1	λ2	λ3
$Kern^+$ Oz^+	$Kern^-$ Oz^+	$Kern^+$ Oz^-
(154) (190)	(154) (190)	(154) (190)
Gly Lys	Ser Lys	Gly Arg

Markerii antigenici Kern și Oz sînt deci determinanți izotipici, localizați pe lanțurile *lambda*. Markeri izotipici similari nu au fost identificați, la om, pe lanțurile *kappa* (markeri antigenici pe lanț *kappa* au fost descriși la iepure — subtipurile kA și kB, coordonate de două gene distincte — și deosebirea între ei constă în existența unei grupări disulfurice intralanț, suplimentară, legînd regiunile V_L și C_L, prezentă în cazul subtipului kB).

c) Pe lanțurile *kappa*, la om, au fost identificați, în regiunile constante, *determinanți alotipici* ce constituie specificitățile cunoscute ca *Inv* și caracterizate prin substituția Leu/Val în poziția 191. Specificitățile Inv (1) și Inv (3) reprezintă două forme alelice ale aceluiași locus. La 98% dintre caucazieni, specificitatea Inv (1) este complexată și cu diferența Val/Ala în poziția 153, care și ea corespunde schimbării pe codon a unei singure baze. Rezultă astfel posibilitatea existenței de trei *alotipuri Inv*, caracterizate prin prezența de reziduuri diferite în pozițiile 153 și 191, și anume:

Alotipul Inv	*Poziția: 153*	*191*
1, 2, −3 (1,2)	Ala	Leu
−1, −2, 3 (3)	Ala	Val
1, −2, −3 (1)	Val	Leu

d) Pe lanțul greu γ (IgG) de la om, în regiunea constantă, au fost identificați o serie de *markeri antigenici alotipici* (segregînd după legile mendeliene simple), care sînt caracteristici fiecărui izotip γ și care constituie așa-numitul *sistem Gm* (Grubb). Acești markeri corespund unui număr redus de substituții, și anume:

Izotipul	*Poziția*	*Substituția*	*Alotipul (Gm)*
IgG1	356—358	Asp. Glu. Leu/Glu.Glu.Met.	Gm(1)/Gm(−1)
	214	Arg /Lys	Gm(4)/Gm(−4)
IgG2	296	Phe /Tyr	Gm(5)/Gm(21)
IgG3	309—311	Val.Leu.His/Val.His	Gm(4)/Gm(4b)

e) În cazul izotipului IgA2, pe lanțul greu α2, în regiunea constantă, s-au descris specificitățile alotipice Am(1)/Am(−1), cunoscute și sub denumirea de *sistem Am*.

Concomitent cu descrierea markerilor alotipici la om (Grubb), Oudin și colaboratorii au descris numeroase *alotipuri la Ig de iepure*. În cadrul aceleiași specii și în urma unei imunizări adecvate, unii indivizi pot recunoaște ca non-self determinanții antigenici ai imunoglobulinelor provenite de la alți indivizi. Utilizarea unor astfel de seruri imune antialotip[19] a permis urmărirea transmiterii ereditare a specificităților alotipice, verificîndu-se experimental observația făcută la om că specificitățile alotipice segregă după modalitățile descrise de Mendel, ca alele codominante ale aceluiași locus autosomal.

Studiile preliminare ale lui Oudin au arătat, la iepure, existența a 6 alotipuri principale, corespunzînd la 2 grupuri de cîte 3 specificități;

[19] Din care în prealabil se elimină anticorpii antiizotip.

fiecare iepure prezintă totdeauna numai două specificităţi dintr-un același grup. Cele 2 grupuri reflectă 2 serii a cîte 3 alele, aparţinînd la doi loci distincţi ce controlează două tipuri de specificitate alotipice. Acestea au fost notate Aa1, Aa2, Aa3 şi Ab1, Ab2, Ab3 pentru specificităţile alotipice *a*, localizate pe lanţul H, şi — respectiv — pentru specificităţile alotipice *b*, amplasate pe lanţurile L.

Alte alotipuri au fost identificate, la iepure, pe regiunile $C\gamma$: locusul *d*, corespunzînd specificităţilor A11 şi A12 (permutări Thr/Ser în poziţia 229); locusul *e*, corespunzînd la specificităţile A14 şi A15 (Thr/Ala în 309); specificităţile A8 şi A10 corespunzînd părţii glucidice a moleculei IgG etc.

Cercetări ulterioare au evidenţiat că specificităţile *a* sînt, cel puţin în parte, localizate în regiunile V_H (Koshland). Fiecare specificitate din seriile *a* sau *b* este în fapt o familie de variante, care pot fi evidenţiate într-un același ser; acestea sugerează că locii *a* şi *b* sînt complexe compuse din mai mulţi cistroni.

Asociarea de markeri alotipici simultani pe regiuni C şi V ale unui aceluiaşi lanţ constituie o confirmare a aşa-numitului *fenomen Todd*[20].

Polimorfismul regiunilor variabile ale lanţurilor H şi L este deosebit de accentuat. Prin definiţie, principala cauză a polimorfismului regiunilor V trebuie să fie cele două segmente (L şi H) N-terminale ale regiunilor V, adică suprafaţa corespunzătoare situsurilor de combinare. În acest sens, studiile de analiză sistematică a secvenţelor în regiunile V (Kabat, 1976) au arătat existenţa a trei *zone hipervariabile* pe lanţurile L (L_1 corespunzînd poziţiilor 23—34, $L_2 = 55-60$ şi $L_3 = 89-97$) şi a patru zone hipervariabile pe lanţurile H ($H_1 = 31-35$, $H_2 = 50-65$, $H_3 = 81-87$ şi $H_4 = 95-102$) (fig. 7). Cele două regiuni variabile V_L şi V_H ce conţin segmentele hipervariabile constituie aşa-numitul *fragment Fv*. Aminoacizii din segmentele hipervariabile vin în contact cu liganzii antigenici specifici şi ei pot fi însemnaţi prin metoda marcării de afinitate; aceşti aminoacizi din zonele de hipervariabilitate asigură deci complementaritatea situsurilor de combinare şi trebuie să prezinte o variabilitate de cel puţin 10^3-10^5, corespunzător numărului de situsuri de combinare diferite.

După cum s-a amintit, între zonele hipervariabile ale regiunilor V_L şi V_H există zone relativ constante, cu secvenţe conservate pentru toate lanţurile k, λ sau γ (α, μ, δ, ori ε) ale unui izotip ; ceva mai mult, un procent din secvenţele de aminoacizi ale zonelor V conservate este comun pentru toate cele trei tipuri de regiuni variabile : V_λ, V_k şi V_H . La om, spre exemplu, poziţiile 1—24 de pe lanţurile *kappa* sînt conservate pentru toate aceste lanţuri, indiferent de specificitatea anticorpică a Ig respective, iar din această secvenţă, poziţiile 1—8 sînt conservate în comun de toate cele trei tipuri de regiuni variabile dintr-o moleculă de Ig, şi anume : V_λ, V_k şi V_λ [21].

---

[20] În 1963, Todd a arătat că alotipurile de tip *a* se pot identifica atît pe molecule IgG cît şi pe IgM şi IgA. Fenomenul descris de Todd demonstra că variate regiuni V_H pot fi asociate la întîmplare cu diverse regiuni C_H.

[21] Raportate la structura unui lanţ greu γ uman, poziţiile comune ale celor 3 tipuri de regiuni variabile sînt : 1—8, 36—47, 90—98 şi 103—111.

În cazul lanțurilor ușoare kappa de origine umană, zona cu secvență conservată corespunzînd pozițiilor 1—24 determină *subgrupele izotipice de Ig* V_kI, V_kII și V_kIII (Milstein, 1967) (tabelul nr. 5). În mod asemănător, pe lanțurile ușoare lambda, zonele cu secvențe conservate determină subgrupele izotipice $V_\lambda I$ — $V_\lambda V$, iar zonele corespunzătoare de pe regiunea V a tuturor lanțurilor H determină subgrupele izotipice V_HI — V_HIII (v. tabelul nr. 4).

Tabelul

Secvența aminoacizilor 1—24 de pe lanțurile kappa

Poziția	1 2 3 4	5 6 7 8 9
Subgrupul V_kI	Asp-Ile-Gln-Met-	Thr-Gln-Ser-Pro-Ser
Subgrupul V_kII	Val-Leu-	Leu
Subgrupul V_kIII	Glu Val-Leu-	Gly-

Structurile de bază ale lanțurilor H și L de Ig au permis o analiză independentă a regiunilor V și C corespunzătoare (Bach, 1978). Astfel, pentru codificarea celor 3 regiuni constante C_k, C_λ și C_H au fost identificate 3 grupuri de cistroni și alte 3 grupuri distincte de cistroni pentru codificarea regiunilor variabile corespunzătoare V_k, V_λ și V_H. Diversificarea acestor regiuni V și C în subgrupuri și izotipuri arată că numărul de gene *V* și *C* care codifică lanțurile k, λ și H nu este identic, iar cistronii necesari pentru sinteza unei molecule de Ig pot fi considerați ca 3 grupuri de translocare (fig. 8); procesul este ceva mai complex dacă se ține seama și de determinanții alotipici (amplasați pe regiunile C) și de cei idiotipici (localizați pe regiunile V).

Determinanții idiotipici caracterizează moleculele de Ig specifice față de un anumit antigen și produse de un singur individ. Idiotipia moleculelor anticorp a fost demonstrată de Oudin (la iepure) și de Kunkel (la om). Schema experimentală tip de demonstrare a idiotipurilor este prezentată în fig. 9. Se folosesc doi iepuri (I și II) cu alotipuri identice. Înainte de începerea experienței, iepurelui I i se ia o probă de ser A0 (care constituie „martorul") și apoi se inoculează cu *S. typhi*. Anticorpii Ac1 care se formează sînt prelevați prin sîngerare și inoculați la iepurele II. Acesta va dezvolta anticorpi Ac2, specifici față de Ac1. Acești anticorpi Ac2 pot precipita imunoglobulinele Ac1, dar nu pot reacționa cu Ig din A0 și nici cu anticorpii anti-*S. typhi* sintetizați de oricare alt iepure. Cu alte cuvinte, moleculele de Ig-anticorpi Ac1 anti - *S. typhi* sînt diferite atît de Ig din serul A0 al aceluiași animal neimunizat, cît și de Ig-anticorpi anti - *S. typhi* sintetizate de orice alt iepure. Rezultă că sinteza de către iepurele I a anticorpilor Ac1 anti-*S. typhi* a condus la apariția unui nou determinant antigenic în serul acestui iepure I. Serul Ac2 de la iepurele II este denumit „ser anti-idiotip", și poate recunoaște doar anticorpii anti - *S. typhi* produși numai de iepurele I.

Markerii „individuali" idiotipici apar numai în molecula de Ig cu funcție de anticorp, ceea ce sugerează o legătură strînsă între acești markeri și situsul de combinare. În fapt, s-a constatat că perechile $V_H + V_L$

(aşa-numitele fragmente Fv) poartă determinanţii antigenici individuali ai Ig-anticorp (determinanţii „idiotipici''), deoarece aceste fragmente reacţionează cu anticorpii anti-idiotipici, neutralizîndu-i.

Diversitatea idiotipurilor pare să fie deci cel puţin egală cu cea a totalităţii tipurilor de antigene. Iar dacă se ţine seama de faptul că pentru fiecare antigen apar mai multe tipuri de anticorpi, cu afinităţi diferite dar şi cu idiotipuri distincte (Oudin), atunci numărul de idiotipuri posi-

nr. 5

umane şi caracterul izotipic de subgrup

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Ser-	Leu-	Ser-	Ala-	Ser-	Val-	Gly-	Asp-	Arg-	Val-	Thr-	Ile-	Thr-	Cys-	Gln
		Pro-	Val-	Thr-	Pro-		Glu-	Pro-	Ala-	Ser-		Ser-		Arg
Thr-				Leu-	Pro-		Glu-		Ala-		Leu-	Ser-		Arg

bile poate depăşi consistent numărul de antigene. Există însă şi o altă posibilitate, cu efect invers, limitativ, în ceea ce priveşte diversitatea idiotipurilor, şi anume: posibilitatea ca unele clase sau subclase distincte de Ig-anticorpi să aibă determinanţi idiotipici identici. Acest lucru a fost evidenţiat iniţial de Oudin şi Bordenave pentru molecule specifice de

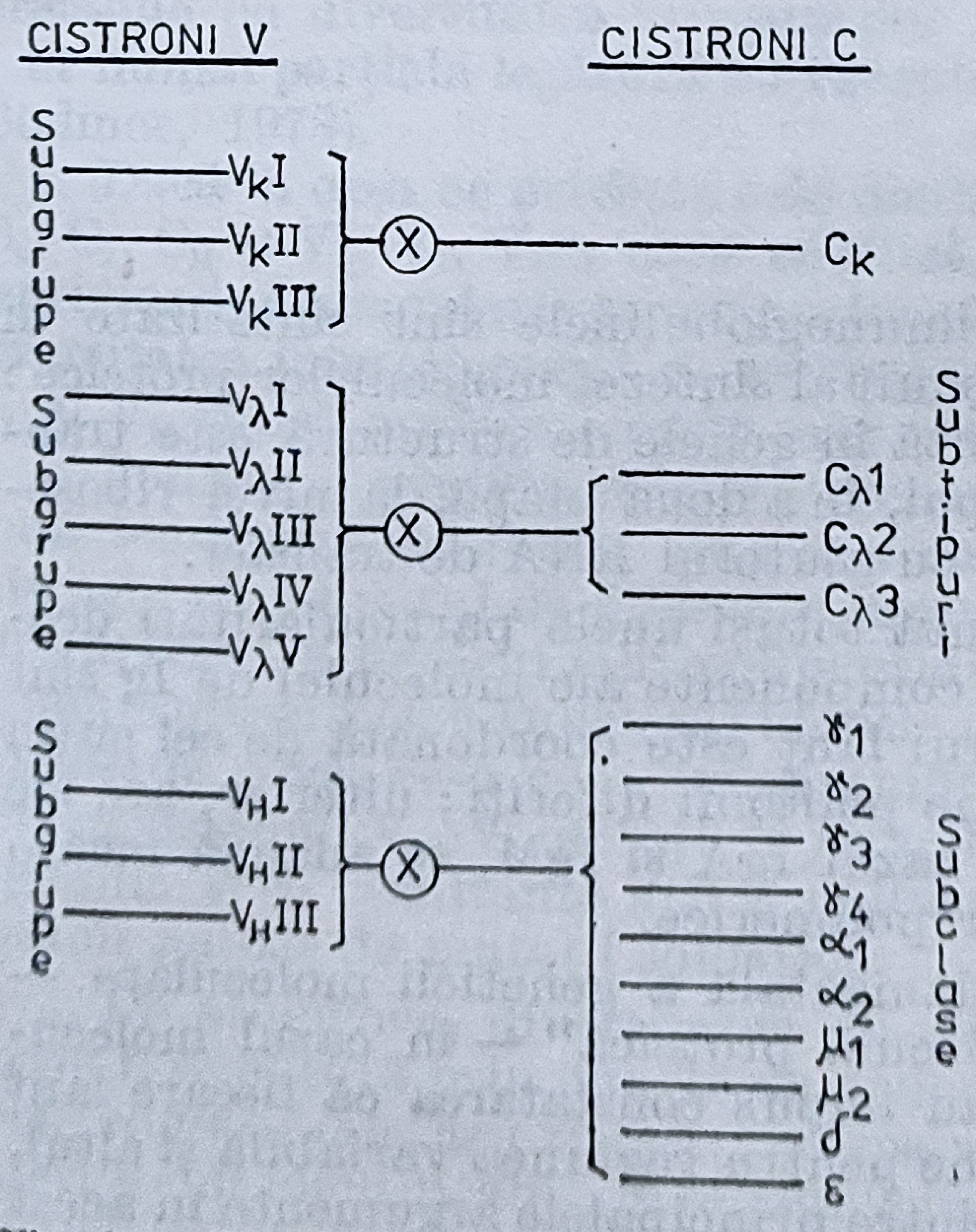


Fig. 8. — Cele 3 grupe de translocări evidenţiabile la Ig umane, în funcţie de numărul minim de gene V *(subgrupe)* şi gene C *(subclase şi subtipuri)* ce codifică sinteza moleculelor de Ig.

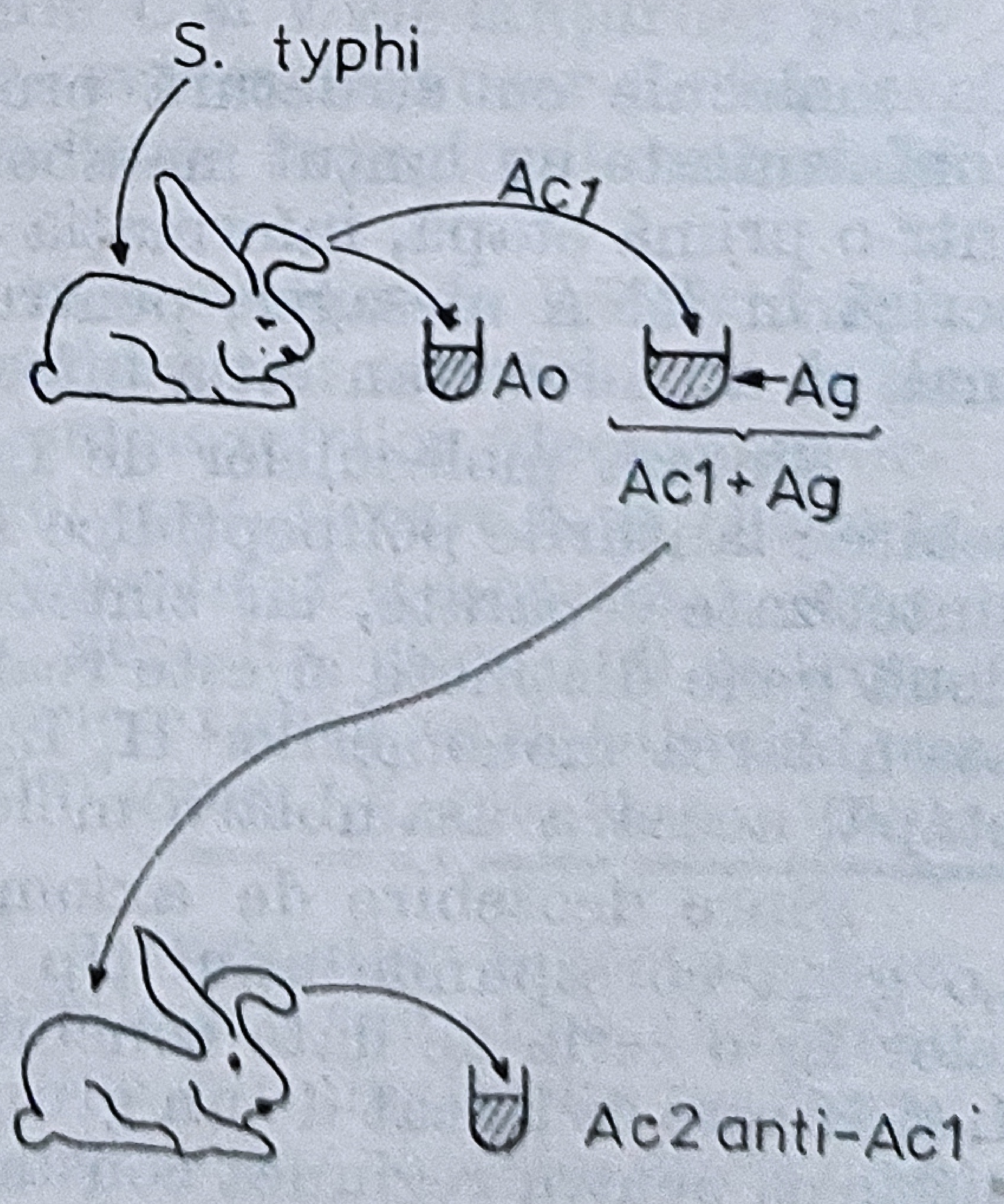


Fig. 9. — Schema de imunizare pentru obţinerea anticorpilor anti-idiotip.

IgG și IgM, iar Hopper și colab. (1976) au evidențiat o IgM umană și o IgGk de la același individ, ambele avînd aceleași specificități idiotipice, în pofida faptului că lanțul H al IgM era V_HIII și lanțul H al IgG aparținea subgrupului V_HI.

Idiotipuri ale receptorilor de pe celula T. Serurile anti-idiotip pot reacționa nu numai cu anticorpii care au servit la producerea lor, ci și cu limfocitele B stimulate care poartă asemenea molecule Ig anticorpice. Mai recent, mai mulți cercetători (Wigzell, 1976; Bach, 1978) au descris reacții între serurile anti-idiotip și receptorii de tip MHC de pe suprafața limfocitelor T. Astfel, s-a constatat că serul imun anti-anticorp polizaharidic de streptococ A stimulează și celule T ajutătoare de șoarece (Rajewski). În același sens, anticorpii obținuți cu receptori de pe celule T s-au dovedit capabili să reacționeze atît cu antigene MHC corespunzătoare, cît și cu anticorpi IgG de la același animal; de asemenea, aceiași anticorpi anti-receptor T pot liza, în prezența complementului, celule T implicate în reacții MLC sau reacții de tip grefă contra gazdă (Wigzell).

Aceste date experimentale, ca și alte rezultate similare, evidențiază reacții încrucișate între structurile idiotipice ale unor molecule de Ig-anticorpi și structurile unor receptori pentru antigen de pe suprafața limfocitului T. Întrucît aceste date demonstrează structuri comune între idiotipul moleculei de Ig și cel al receptorului de pe celula T, este de gîndit că între secvențele aminoacizilor de pe structura variabilă a receptorilor celulei T și secvențele regiunilor V ale moleculelor de Ig există mai multe zone identice, echivalente izotipurilor.

2. *Sinteza și metabolizarea moleculei de Ig*

Ca molecule cu structură proteică, imunoglobulinele sînt sintetizate în conformitate cu lanțul metabolic obișnuit al sintezei moleculelor proteice: într-o primă etapă, informația conținută în genele de structură este transcrisă în RNA mesager, pentru ca apoi, în a doua etapă, la nivel ribosomal, să aibe loc translația informației cu ajutorul RNA de transfer.

Sinteza moleculelor de Ig prezintă totuși unele particularități deosebite: lanțurile polipeptidice L și H componente ale moleculei de Ig sînt sintetizate separate, iar sinteza fiecărui lanț este coordonată de cel puțin două gene distincte și este realizată pe polisomi diferiți; ulterior, are loc asamblarea monomerilor H_2 L_2 și, în cazul IgA și IgM, se adaugă încă o etapă, aceea a asamblării moleculelor polimerice.

Spre deosebire de axioma fundamentală a geneticii moleculare — „o genă corespunde unui tip de moleculă proteică" — în cazul moleculelor Ig o serie de date concludente au impus constatarea că fiecare lanț L și H este codificat de un grup de gene pentru regiunea variabilă și altul, distinct, pentru regiunea constantă. Dintre principalele argumente în acest sens pot fi amintite următoarele date: *(a)* pentru o aceeași regiune constantă, regiunea variabilă a lanțului respectiv (H sau L) poate fi diferită; *(b)* un anumit subgrup al regiunii variabile poate fi asociat cu clase diferite ale regiunii constante; *(c)* existența unor aceiași determinanți idio-

tipici (în regiunile V) pe molecule cu regiuni C net diferite, aşa cum sînt anticorpii IgG şi IgM; *(d)* existenţa, în serul unui acelaşi individ, de molecule de Ig monoclonale avînd regiuni V identice dar aparţinînd unor clase distincte etc.

Mecanismul prin care are loc integrarea a două gene distincte pentru a sintetiza un singur lanţ polipeptidic încă nu este complet precizat, este însă probabil că procesul se realizează la nivelul moleculei DNA şi nu are loc după transcripţie, aşa cum sugerează datele prezentate de Tonegawa şi Hozumi (v. mai departe).

Reduse sînt şi cunoştinţele actuale privind localizarea genelor de codificare a sintezei lanţurilor L şi H. Se ştie însă că genele structurale pentru sinteza moleculei de Ig nu sînt amplasate pe cromosomii sexuali. La om, genele pentru codificarea lanţurilor H sînt localizate pe cromosomul 2. Se cunoaşte de asemenea că: între genele ce codifică subclasele de IgG şi cele ce codifică sinteza *inhibitorului alpha-1-antitripsinic* există o legătură strînsă; genele C_H (care codifică zonele constante ce caracterizează diferitele clase şi subclase pe lanţurile H) sînt strîns legate între ele; o altă legătură strînsă există între genele C_H şi genele V_H (ce codifică regiunea variabilă a lanţurilor H), ca şi între genele C_L şi V_L; în schimb, nu există nici o legătură între genele C_k şi C_λ ce codifică regiunile constante ale lanţurilor L şi nici între acestea şi genele C_H.

Un ansamblu de date mai numeroase privind localizarea genelor implicate în răspunsul imun au fost obţinute odată cu studiul *antigenelor de histocompatibilitate* (v. cap. I,E, şi II,A), însă aceste date sînt strîns corelabile cu diversitatea receptorilor glicoproteinici de pe limfocitele T şi au numai parţială legătură cu receptorii imunoglobulinici de pe celula B (Bodmer, 1978).

Dacă în ceea ce priveşte cele două categorii a cîte 3 grupe de cistroni (C_k, C_λ, C_H şi V_k, V_λ, V_H), care codifică regiunile C şi V ale lanţurilor polipeptidice de Ig, corelaţia genotip—fenotip apare evidentă şi uşor de înţeles, diversitatea impresionantă a secvenţei aminoacizilor în regiunile variabile V_L şi V_H ridică probleme mult mai complexe.

Pentru a explica originea genetică a moleculelor de Ig-anticorpi, două teorii sînt posibile: *(a)* una care consideră că numărul de gene este egal cu numărul de diferenţe în secvenţa aminoacizilor (deci în structura primară a fiecărui lanţ polipeptidic); altfel spus, fiecare lanţ H sau L al unui subgrup (sau subclasă) identic de molecule Ig ar fi sintetizat de o familie de gene, ceea ce — în ansamblu — ar necesita circa 100 cistroni pentru sistemul V_k, V_λ şi V_H; *(b)* o a doua teorie explică variaţiile de pe regiunile V ca rezultantă atît a polimorfismului genei *V* cît şi a unui anumit număr de mutaţii somatice.

De asemenea, diversitatea de structură a regiunilor hipervariabile poate fi explicată prin puncte de vedere germinale sau somatice. Conform *ipotezei germinale*, ar exista tot atîtea gene în linia germinală cîte secvenţe diferite sînt identificabile în regiunile variabile, ceea ce ar necesita un număr de $10^3 - 10^4$ cistroni pentru fiecare sistem V. Conform *ipotezei somatice*, diversitatea secvenţei aminoacizilor pe lanţurile L şi H ar fi rezultatul acumulării de mutaţii ce au loc în cursul unui proces somatic iniţiat de-a lungul ontogenezei celulelor limfoide. Pentru a explica printr-un astfel de mecanism somatic toate variaţiile de secvenţe constatate atît în zonele

relativ conservate cît şi în zonele hipervariabile ale lanţurilor, numărul de cistroni *V* din linia germinală ar trebui să fie egal cu numărul minim de subgrupe de variabilitate (v. tabelul nr. 4). Conform ipotezei somatice, deci, o unitate genetică ar corespunde unui subgrup, rezultînd : 3 unităţi genetice pentru V_κ, 5 pentru V_λ şi 3 pentru V_H (v. tabelul nr. 4).

Poate fi enunţată şi o *ipoteză intermediară* (Bach, 1978), care consideră că structura regiunilor hipervariabile este dobîndită prin mutaţii somatice, în timp ce limitarea variabilităţii secvenţelor ar fi de origine germinală. O asemenea ipoteză ar necesita funcţionarea a circa 100 gene pentru sistemul V.

O posibilitate de a verifica validitatea acestor ipoteze a oferit-o studiile privind moleculele de RNA mesager care poartă informaţia pentru sinteza polipeptidelor de Ig. Asemenea studii, privind formarea lanţurilor de Ig ca urmare a inserării de precursori marcaţi radioactiv, au demonstrat că există o singură moleculă de RNA mesager pentru fiecare lanţ (L sau H) sintetizat.

În ultimii ani au putut fi obţinute preparate pure de RNA mesager pentru lanţuri L şi, separat, pentru lanţuri H de Ig (Milstein şi colab., 1974, 1976), ceea ce a permis realizarea sintezei de Ig în sisteme lipsite de celule, conţinînd ribosomi, enzime şi metaboliţii necesari pentru sinteza proteinelor. A fost de asemenea posibil să se obţină sinteză de Ig *in vitro*, în celule care normal nu sintetizează Ig (reticulocite de iepure, ouă de amfibii etc.), dar care realizează asemenea sinteze dacă sînt puse în contact cu preparate purificate de RNA mesager pentru Ig. Aceste studii au permis să se evidenţieze că fiecare moleculă de RNA mesager codifică un lanţ H sau L anumit şi că, dintr-o moleculă de RNA mesager, se pot desprinde oligonucleotide care pot codifica, separat, fie regiunea variabilă, fie regiunea constantă, fie zona de joncţiune dintre regiunile V şi C ale unui lanţ polipeptidic de Ig.

Rezultă astfel că mRNA pentru Ig poartă transcrise informaţiile unui număr mare de gene, printre care multe legate între ele, dar care prezintă grade diferite de polimorfism.

Metodele de hibridizare între mRNA şi DNA (Milstein şi colab., 1976 ; Tonegawa, 1976) au permis obţinerea de date suplimentare privind atît structura mRNA pentru Ig, cît şi, în mod special, originea genetică a enormei diversităţii structurale a moleculelor de Ig.

Experimentele de hibridizare moleculară folosesc mRNA marcat sau/şi DNA complementar (cDNA) preparat prin biosinteză, cu ajutorul transcriptazei inverse, folosind ca matrice chiar mRNA studiat, iar ca iniţiator : fie un oligo (dT), care este complementar cu poli (A) conţinut în molecula de mRNA (v. mai departe), fie alte oligonucleotide specifice în structuri complementare anumitor secvenţe cunoscute de pe polimerul mRNA. Prin această metodologie a fost posibil să se obţină sinteza unor molecule cDNA scurte, care copiau un număr relativ mic de secvenţe de pe catena de mRNA. Asemenea cDNA scurte sînt apoi digerate cu enzime speciale[22], iar oligonucleotidele rezultate sînt identificate prin fracţionare bidimensională în geluri adecvate. În felul acesta, o serie de secvenţe

---

[22] Spre ex. : endonucleaza IV clivează molecula DNA la nivelul bazelor citidinice ; iar fosfodiesteraza din veninul de şarpe acţionează la nivelul legăturii 3'-terminală.

din catena cDNA au putut fi identificate. Prin varierea lungimii copiei transcrise a fost posibil să se identifice alte secvențe, în continuarea celor inițial analizate. Odată cunoscute secvențele de pe cDNA, ele sînt transcrise în cod RNA și comparate cu secvențele identificate direct pe molecula de mRNA pentru Ig.

Studiile inițiale de hibridare experimentală au folosit mRNA și DNA nuclear, însă analiza cineticii de legare a demonstrat o importantă lipsă de specificitate. Utilizarea de cDNA care conține copia unei porțiuni însemnate din fragmentul de mRNA ce codifică regiunea V_L, a permis obținerea unei cinetici de hibridizare unică și a dus la concluzia că mRNA pentru Ig conține, spre partea 5′terminală a moleculei sale, o suită de secvențe ce ar corespunde la un ansamblu de circa 200 gene. Un astfel de preparat de mRNA, dacă este însă hibridizat cu DNA extras din ficat (care echivalează cu un DNA din linie germinală), nu prezintă decît un număr redus de secvențe, corespunzător la cel mult 20 de gene. Cu alte cuvinte, numărul de secvențe transcrise pe regiunea V este mult mai mic cînd determinarea se face prin hibridizare cu DNA din linia germinală, decît atunci cînd determinarea se face prin analiza secvenței aminoacizilor în molecula de Ig. Aceste date îl fac pe Milstein și colab. (1976) să conchidă că *o serie de procese somatice contribuie la diversificarea moleculelor de Ig sintetizate*, rezultatele obținute de autori fiind interpretate astfel: molecula de mRNA pentru Ig conține o cantitate importantă de informație, din care numai o mică parte există și pe DNA de linie germinală, restul corespunzînd unor porțiuni de DNA somatic, diversificat din cel germinal ca urmare a mai multor procese mutaționale.

La concluzii similare ajung Tonegawa (1976) și colaboratorii săi, care folosesc hibridizări încrucișate între DNA hepatic (reprezentînd genele de structură) și două tipuri de mRNA pentru Ig, care codifică regiuni V înrudite dar nu identice. Compararea frecvențelor de reiterare la DNA a mRNA, singur sau în prezența competitivă a unui alt mRNA înrudit, a permis să se constate că numărul de zone din regiunea V care dau hibridizare încrucișată este net mai mare decît frecvența de reiterare directă cu DNA de linie germinală, ceea ce constituie o dovadă formală pentru generarea somatică a diversității moleculelor de anticorpi. Rezultatele obținute de Tonegawa arată — în cazul mRNA pentru lanțul λ al Ig mielomatoase MOPC 104E și HOPC 2020 de șoarece BALB/c — că în linia germinală n-ar exista mai mult de 2—3 gene V_λ și că există cel puțin 20—30 gene V_λ de origine somatică codificate în moleculele de mRNA analizate prin hibridizare încrucișată. Asemenea investigații argumentează pentru concluzia că fiecare dintre cele 2—3 gene structurale V_λ generează somatic un grup strîns înrudit dar diversificat de regiuni V.

De-a lungul catenei de mRNA pentru lanțurile L sau H de Ig există două regiuni distincte: una către capătul 5 terminal al moleculei, preluînd informația de la genele C; și alta, către capătul 3′-terminal al moleculei, purtînd informația preluată de la genele V.

În ceea ce privește modalitatea de integrare într-o singură moleculă de mRNA a informației purtată de genele V și C, datele experimentale prezentate în 1976 de către Tonegawa și Hozumi pledează pentru o integrare directă, la nivelul DNA, și sînt împotriva unei integrări ulterioare după realizarea transcripției DNA—RNA, ca rezultat al unei joncțiuni

dintre două molecule distincte de mRNA. Autorii extrag DNA bicatenar din embrion (DNA de linie germinală) și din plasmocitom (DNA somatic) de șoarece. După clivarea preparatelor de DNA cu ajutorul unor endonucleaze restrictive bacteriene[23], fragmentele obținute sînt testate pentru gradul de hibridizare fie cu mRNA pentru lanțul *kappa* integral, fie cu partea 3'- terminală (care codifică regiunea V) a acestuia. Prin acest model experimental, s-a observat că DNA embrionar (ce conține genele de structură) eliberează prin clivare enzimatică atît fragmente de 6×10^6 daltoni care — prin hibridare cu mRNA — se dovedesc a conține numai genele C_k, cît și fragmente de $3,9 \times 10^6$ daltoni care dețin strict genele V_k; aceasta demonstrează amplasarea distinctă, la distanță, a genelor C și V pe DNA germinal. În schimb, DNA plasmocitar (ce reprezintă genele somatice) eliberează prin clivare enzimatică fragmente de $2,4 \times 10^6$ daltoni care se dovedesc a conține atît genele C_k cît și V_k; aceasta pledează pentru amplasarea liniară și în strînsă vecinătate pe DNA somatic a genelor C și V, rezultînd implicit posibilitatea lor de a fi transcris simultan, pe o singură moleculă de mRNA.

Cu alte cuvinte, în timp ce în linia germinală genele C și V sînt amplasate la distanță mare unele de altele, în plasmocite — ca rezultat al diferențierii limfocitare — amplasarea genelor C și V suferă modificări importante, rezultînd apropierea și integrarea lor.

Au fost sugerate diferite modele care să explice *mecanisul de integrare a genelor V și C* la nivelul DNA și în cursul diferențierii limfocitare. Printre acestea pot fi amintite : inserția copiei, inserția unor excizii, duplicarea laterală, deleția. Ultimul model — *deleția genelor* — propus inițial de Kabat pentru sistemul de gene al globulinei, a fost reținut ca mecanism probabil pentru integrarea genelor C și V.

În cursul ontogeniei, un mare număr de cistroni noi pot fi generați printr-o serie de recombinări somatice datorită unor procese de crossing-over inegal.

Gally și Edelman (1970) propun mecanismul recombinării moleculare prin crossing-over inegal pentru explicarea translocării $V-C$ și generarea variabilității. În conformitate cu modelul propus de autori (fig. 10) deleția materialului genetic conținut între genele legate V și C este un mecanism de translocare ce poate acționa independent de alte mecanisme (excizie, recombinări între lanțuri etc.).

După Kabat, care de asemenea sugerează că recombinarea somatică este mecanismul de generare a variabilității, DNA din linia germinală poate conține gene care codifică structura de bază a lanțurilor L și H, precum și cîteva segmente „hipervariabile". În cursul diferențierii somatice limfocitare, unele din aceste segmente vor putea fi translocate printre secvențele de bază, constituind gena V întreagă. Această ipoteză este în acord cu : *(a)* numărul mai mic de gene V detectat prin hibridizare ; *(b)*

---

[23] Enzima Eco R—I extrasă din *Esch. coli* R—I clivează specific DNA bicatenar la nivelul perechilor guanină-adenină :

$$\begin{array}{l} \vdash\ G{\downarrow}\ A\ A\ T\ T\ C \longrightarrow \\ \longleftarrow C\ \ T\ T\ A\ A{\uparrow}\ G\ \dashv \end{array}$$

O altă endonuclează, Bam H1, extrasă din *B. amyloliquefaciens*, scindează specific DNA bicatenar la nivelul grupărilor diguaninice :

$$\begin{array}{l} \vdash\ G{\downarrow}\ G\ A\ A\ T\ C\ C \longrightarrow \\ \longleftarrow C\ \ C\ T\ T\ A\ G{\uparrow}\ G\ \dashv \end{array}$$

existența de secvențe identice prezente în regiunea hipervariabilă a mai multor molecule diferite de Ig; *(c)* lipsa transmiterii ereditare a idiotipurilor. Dacă asemenea translocări sînt acceptate, apare ca necesară existența unor semnale speciale pentru excizia și reinserția segmentelor de DNA.

În mod asemănător, dacă se acceptă că locurile *V* și *C* sînt localizate pe același cromosom dar separat în cazul liniei germinale embrionare și că, ulterior, în cursul proceselor de ontogeneză, are loc asocierea *V—C*, va trebui să acceptăm intervenția unor enzime specifice care să asigure translocarea. Aceasta implică existența unor situsuri de recunoaștere prezente pe molecula DNA și dezvoltarea semnalelor respective pentru recunoașterea lor de către endonucleaze de restricție (fig. 10). Asemenea enzime au fost identificate la procariote *(Esch. coli, B. amyloliquefaciens)* (v. mai înainte), iar analiza DNA imunoglobulinic (Fourgereau și colab., 1976) a evidențiat ca posibilă existența de situsuri de recunoaștere pentru o enzimă de inserție. Tehnicile de inginerie genetică vor fi probabil într-un viitor apropiat apte să abordeze această problemă, odată cu precizarea secvenței moleculelor de DNA complementar mRNA pentru lanțurile L sau H.

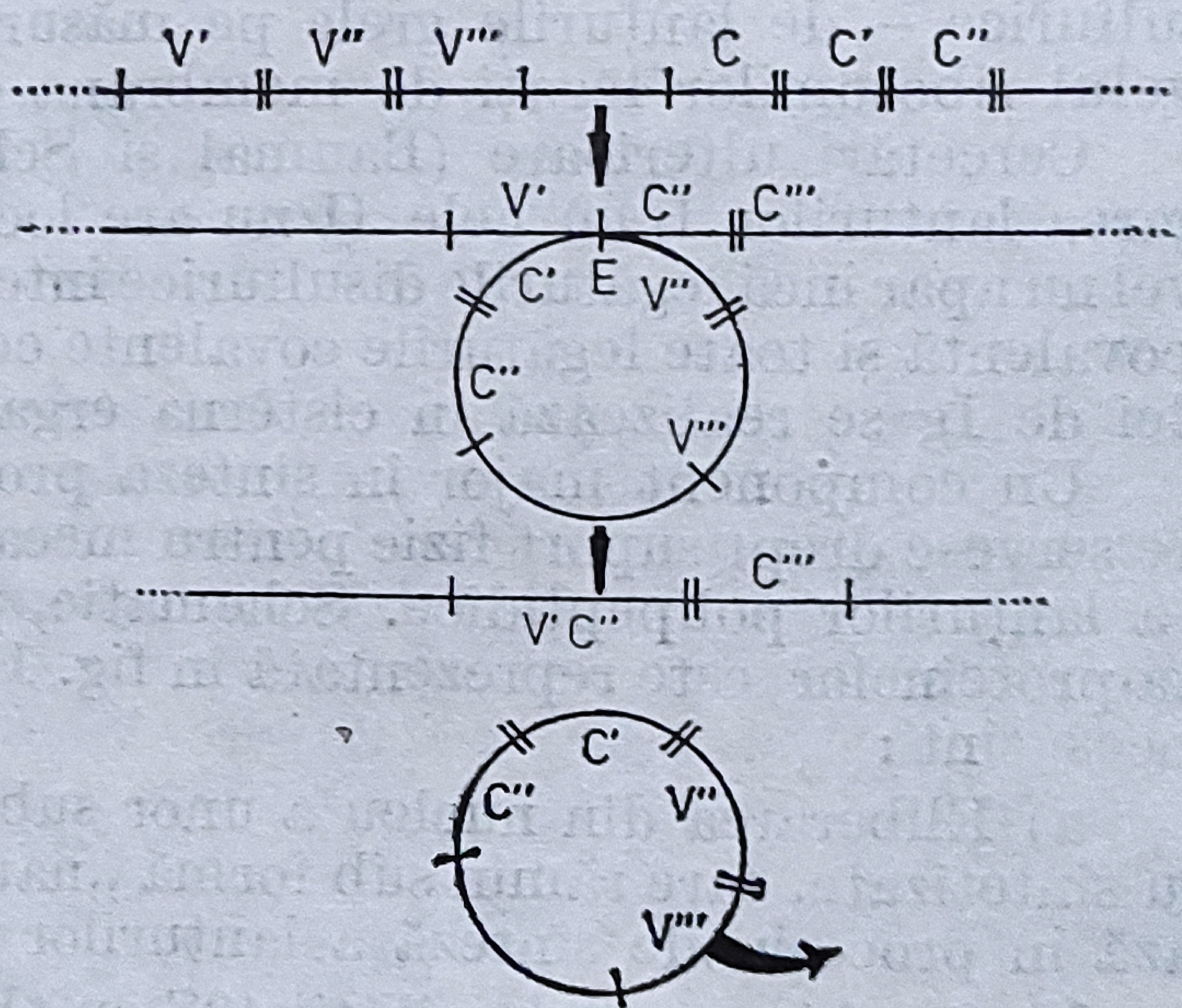


Fig. 10. — Mecanismul deleției în cazul integrării genelor *V* și *C*. (E reprezintă enzima specifică necesară declanșării procesului de recombinare).

Etapele fiziologice ale sintezei moleculelor de Ig au putut fi mai bine precizate datorită unui număr mare de studii (Vitetta și Uhr, 1973; Baumal și Scharff, 1973) care au identificat, la nivel celular, mecanismele de implicare a mRNA. S-a constatat astfel că RNA nuclear din celulele plasmatice conține un precursor al RNA-mesager (pre-mRNA) care are o greutate moleculară mare (conține circa 5 000 de baze). Acest pre-mRNA se separă intranuclear în segmente mai mici, de circa 2 000 baze, care trec în citoplasmă, se fixează pe ribosomi și asigură sinteza lanțurilor H. Din cele 2 000 baze ale mRNA pentru lanțul H, numai 1 350 sînt translate.

În citoplasma celulelor plasmatice au fost identificate și molecule de mRNA pentru lanțuri L; acest mRNA conține 1 250 baze, dintre care 200 constituie o secvență finală de poli(A), ce contribuie la inițierea procesului de fixare pe ribosomi și declanșare a translației. Dintre cele 1 050 baze

secvențate distinct, mRNA pentru lanțul L utilizează la translație numai 690, restul de cca 350 deținînd o funcție încă neprecizată. Utilizat în sisteme de omogenate celulare, mRNA pentru lanțul L asigură sinteza unor lanțuri L mai lungi cu aproximativ 20 de aminoacizi decît lanțurile L produse normal de celulele plasmatice. Suplimentul de 20 aminoacizi este amplasat în poziție terminală și este clivabil, rezultînd lanțuri L obișnuite sau ceva mai scurte.

Moleculele de mRNA sintetizate nuclear sînt eliberate în citoplasmă unde se fixează pe poliribosomi. În cazul mRNA pentru Ig, s-a observat, de mult timp că mRNA pentru lanțul greu se fixează pe polisomi de 300S diferiți de polisomii 200S, pe care se fixează mRNA pentru lanțurile ușoare. Sinteza polipeptidelor de tip H, componente ale moleculei Ig, este localizată în ribosomii legați de membranele ergastoplasmei plasmocitului, proces care are loc în cazul sintezei celulare a tuturor proteinelor ce urmează a fi secretate extracelular. Polipeptidele de tip L (lanțuri ușoare) par să fie sintetizate de ribosomii din masa citoplasmatică, așa cum rezultă din faptul că ei pot fi găsiți liberi în citoplasma plasmocitului (Baumal și Scharff, 1973).

O parte din lanțurile ușoare din citoplasma plasmocitului au fost identificate pe polisomii lanțurilor grele. Acest fapt a dus la ipoteza că lanțurile ușoare, liberate inițial în citoplasmă, se leagă — prin legături disulfurice — de lanțurile grele pe măsură ce acestea sînt sintetizate la nivelul ribosomilor legați de membrana ergastoplasmei.

Cercetări ulterioare (Baumal și Scharff, 1976) au arătat însă că legarea lanțurilor L cu cele H nu are loc pe ribosomi, deoarece la acest nivel nu apar încă legăturile disulfurice interlanțuri. Se pare că asamblarea necovalentă și toate legăturile covalente ce asigură structura finală a moleculei de Ig se realizează în cisterna ergastoplasmică.

Un component major în sinteza proteinelor îl constituie ribosomii, care servesc drept suport fizic pentru mecanismele biochimice de asamblare a lanțurilor polipeptidice. Schematic, participarea ribosomilor la sinteza proteinelor este reprezentată în fig. 11. Principalele trepte ale acestui proces sînt :

a) Eliberarea din nucleu a unor subunități ribosomale (40S și 60S) nou sintetizate, care rămîn sub formă „nativă" (separate) pînă ce se angajează în procesul de sinteză a lanțurilor polipeptidice.

b) Combinarea subunității 40S cu tRNA și cu „factorii de inițiere", printr-o reacție GTP-dependentă. Aceasta constituie prima treaptă efectivă a procesului de sinteză proteică și necesită păstrarea disocierii între subunitățile 40S și 60S.

c) Combinarea subunității 60S, a mRNA și a altor factori de inițiere cu complexul de inițiere 40S (v. treapta *b)*, rezultînd „complexul de inițiere 80S". Această treaptă constituie declanșarea formării polisomilor, deoarece complexe de tip 80S se adaugă de-a lungul mRNA, la regiunea de inițiere a acestuia.

d) Disocierea de ribosomi „liberi", de tip 80S, care are loc numai după ce polipeptidul a fost sintetizat și pe măsura eliberării acestuia. La rîndul lor, ribosomii 80S pot fi scindați în subunități ribosomale „native" (v. treapta *a)*, sub acțiunea „factorului de disociere". O dată disociați în subunități „native", acestea pot reintra în ciclul de sinteză

(Cooper, 1977). Concentrația citoplasmică a „factorului de disociere" devine astfel un element care asigură reglarea sintezei de molecule Ig, deoarece asigură sursa de ribosomi potențial activi, indispensabili răspunsului fiziologic limfocitar la mitogeni.

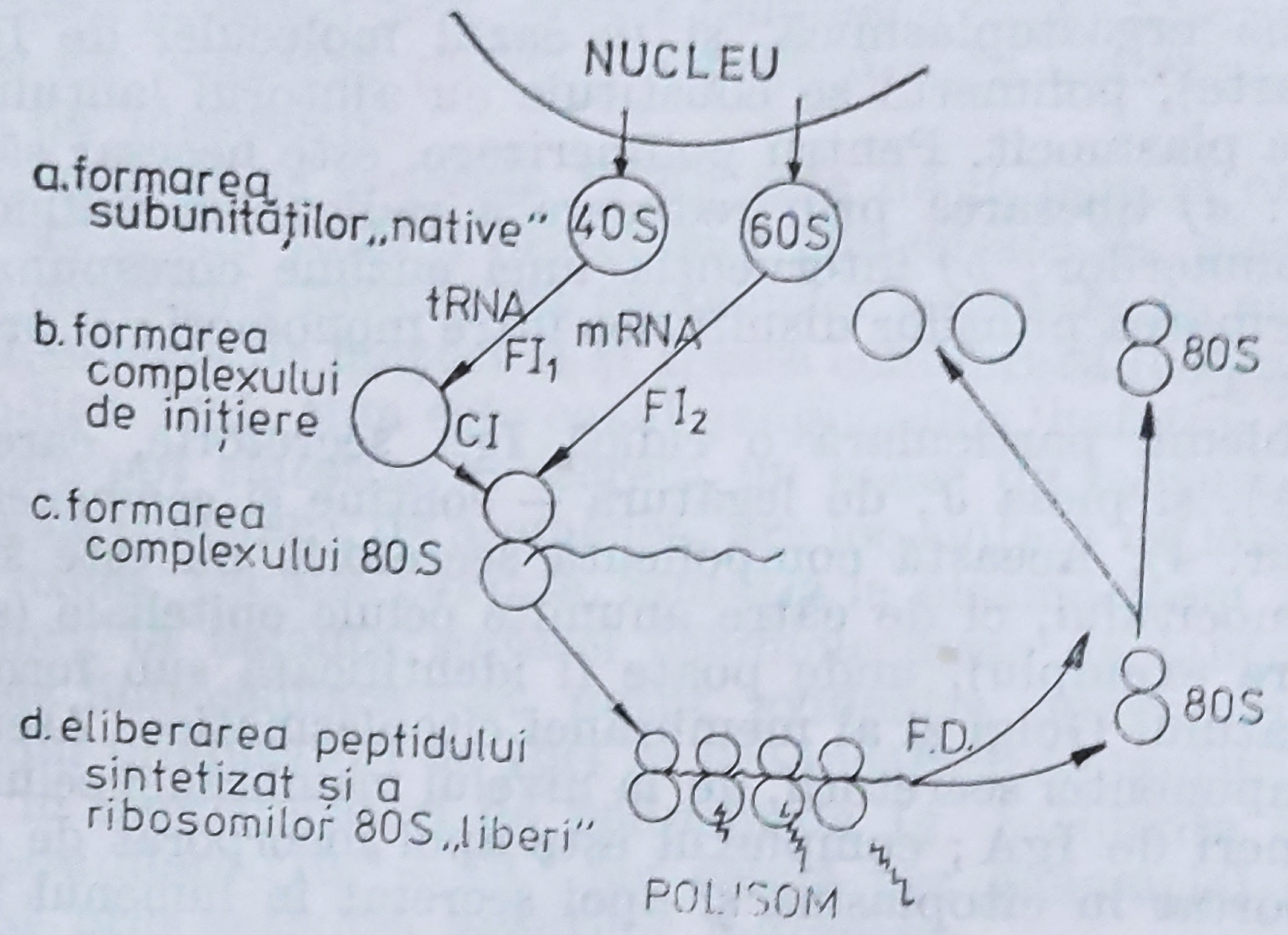


Fig. 11. — Schema participării ribosomilor la sinteza lanțurilor polipeptidice de imunoglobulină. FI_1 și FI_2 = factori de inițiere; *X.I.* = complex de inițiere; *F.D.* = factor de disociere.

Activitatea „factorului de disociere" este dependentă de două mecanisme celulare binecunoscute — balanța de nucleotide ciclice și clivarea proteolitică — ambele reglînd fosforilarea (Cooper, 1977). Asemenea activități au fost observate în limfocite, imediat după declanșarea proceselor de activare imună, care dezvoltă o sinteză proteică foarte intensă. Astfel, modificarea nivelelor nucleotidelor ciclice activează protein-kinaza să fosforileze „factorul de disociere", care devine activ pe această cale. Invers, liberarea de enzime proteolitice poate cliva o proteină inactivă, rezultînd de asemenea un „factor de disociere" activ în prezența ionilor K^+ și Ca^{2+} (implicați și în metabolismul cGMP).

Sinteza lanțurilor H și L pe polisomii respectivi are loc foarte rapid ; astfel, sinteza unui lanț L se realizează în 30 de secunde, iar cea a lanțului H într-un minut. Eliberarea din celulă a moleculelor formate din lanțurile L și H astfel formate nu are însă loc decît după circa 20 de minute (în plasmocitul normal) sau mai mult (în cazul celulelor mielomatoase). Această perioadă de lag corespunde timpului necesar pentru transportul intracelular al lanțurilor sintetizate, pentru asamblarea lor și pentru fixarea la lanțul polipeptidic a unui grup oligozaharidic.

Asamblarea moleculei de Ig se face în două trepte : inițial, după sinteza ribosomală a lanțurilor H și L, are loc formarea de molecule H_2L_2, cu coeficient de sedimentare 7S, care constituie faza finală a moleculelor monomere IgG, IgA, IgD și IgE ; ulterior, pentru moleculele polimere IgM și IgA, are loc o a doua fază, de polimerizare.

În prima treaptă, pentru a se ajunge la forma finală H_2L_2, se constituie ca intermediari atît formele H_2 cît și HL, în funcție de legăturile disulfurice interlanțuri care se realizează.

În a doua treaptă a sintezei, polimerizarea IgA și IgM necesită mecanisme mai complexe. Polimerizarea are loc după angajarea moleculei în cisterna ergastoplasmică, și în cazul moleculei de IgM sau IgA (v. mai departe), polimerul se constituie cu ajutorul lanțului J, sintetizat numai de plasmocit. Pentru polimerizare, este necesar să se realizeze trei condiții : *a)* liberarea prin reducere a radicalilor sulfhidril, necesari cuplării monomerilor ; *b)* intervenția unei enzime corespunzătoare, care să asigure formarea punților disulfurice între monomeri ; *c*) prezența piesei J, de legătură.

O problemă particulară o ridică IgA secretorie, care — pe lîngă dimerul $(IgA)_2$ și piesa J, de legătură — conține și *componenta secretorie* (v. tabelul nr. 4). Această componentă secretorie nu este sintetizată la nivelul plasmocitului, ci de către anumite celule epiteliale (ale mucoasei bronșice, spre exemplu), unde poate fi identificată sub formă liberă, la nivelul aparatului Golgi și al membranei citoplasmatice. Asemenea molecule, ale componentei secretorii, de la nivelul membranei celulei epiteliale, pot fixa dimeri de IgA ; complexul este apoi încorporat de celula epitelială, transportat în citoplasmă și apoi secretat în lumenul bronhial (intestinal etc.).

La nivelul plasmocitului, molecula Ig urmează o cale de transport intracelular bine definită. După pătrunderea lanțurilor H și L în cisterna ergastoplasmică și asamblarea moleculei de Ig, se formează veritabile „vezicule secretorii”, care sînt eliminate din cisternă și pătrund în aparatul Golgi. Aici, sub formă de vezicule de origine golgiană, părăsesc concavitatea aparatului Golgi și sînt propulsate, prin curenții citoplasmatici, în citoplasmă.

Fixarea oligozaharidului pe molecula de Ig se face în etape. Primul carbohidrat fixat pe lanțurile de Ig[24] este glucozamina, iar fixarea se face la asparagină și are loc la nivelul cisternei ergastoplasmice. Ulterior, manoza este legată atît în cisternă cît și în aparatul Golgi, iar glucoza și galactoza sînt fixate în veziculele aparatului Golgi. Acidul sialic este ultimul glucid fixat și această legare are loc imediat înainte de secreția moleculei de Ig.

Secreția moleculelor de Ig din plasmocit se face de regulă prin granulele secretorii. După încorporarea în citoplasmă a acestor granule, ele secretă conținutul lor extracelular printr-un proces de *pinocitoză inversă*.

Mai multe studii sugeraseră, în trecut, că fixarea oligozaharidului pe molecula Ig ar avea drept scop asigurarea procesului de secreție. Cercetări mai recente au demonstrat însă că rolul glucidelor în mecanismele de secreție a Ig este nul, dealtfel și în cele de sinteză a moleculei de Ig. Oligozaharidul nu pare să dețină rol nici în transportul intracelular al Ig, ci este mai degrabă efectul acestuia : la anumite nivele ale transportului are loc fixarea unor monozaharide, ca rezultat al legării moleculei Ig de structurile veziculei secretorii în etape diferite. Dealtfel, atașa-

[24] În cazul moleculei de IgG, fixarea oligozaharidului se face la lanțul H, și anume în domeniul C_H2.

În prima treaptă, pentru a se ajunge la forma finală H_2L_2, se constituie ca intermediari atît formele H_2 cît şi HL, în funcţie de legăturile disulfurice interlanţuri care se realizează.

În a doua treaptă a sintezei, polimerizarea IgA şi IgM necesită mecanisme mai complexe. Polimerizarea are loc după angajarea moleculei în cisterna ergastoplasmică, şi în cazul moleculei de IgM sau IgA (v. mai departe), polimerul se constituie cu ajutorul lanţului J, sintetizat numai de plasmocit. Pentru polimerizare, este necesar să se realizeze trei condiţii : *a)* liberarea prin reducere a radicalilor sulfhidril, necesari cuplării monomerilor ; *b)* intervenţia unei enzime corespunzătoare, care să asigure formarea punţilor disulfurice între monomeri ; *c)* prezenţa piesei J, de legătură.

O problemă particulară o ridică IgA secretorie, care — pe lîngă dimerul $(IgA)_2$ şi piesa J, de legătură — conţine şi *componenta secretorie* (v. tabelul nr. 4). Această componentă secretorie nu este sintetizată la nivelul plasmocitului, ci de către anumite celule epiteliale (ale mucoasei bronşice, spre exemplu), unde poate fi identificată sub formă liberă, la nivelul aparatului Golgi şi al membranei citoplasmatice. Asemenea molecule, ale componentei secretorii, de la nivelul membranei celulei epiteliale, pot fixa dimeri de IgA ; complexul este apoi încorporat de celula epitelială, transportat în citoplasmă şi apoi secretat în lumenul bronhial (intestinal etc.).

La nivelul plasmocitului, molecula Ig urmează o cale de transport intracelular bine definită. După pătrunderea lanţurilor H şi L în cisterna ergastoplasmică şi asamblarea moleculei de Ig, se formează veritabile „vezicule secretorii", care sînt eliminate din cisternă şi pătrund în aparatul Golgi. Aici, sub formă de vezicule de origine golgiană, părăsesc concavitatea aparatului Golgi şi sînt propulsate, prin curenţii citoplasmatici, în citoplasmă.

Fixarea oligozaharidului pe molecula de Ig se face în etape. Primul carbohidrat fixat pe lanţurile de Ig[24] este glucozamina, iar fixarea se face la asparagină şi are loc la nivelul cisternei ergastoplasmice. Ulterior, manoza este legată atît în cisternă cît şi în aparatul Golgi, iar glucoza şi galactoza sînt fixate în veziculele aparatului Golgi. Acidul sialic este ultimul glucid fixat şi această legare are loc imediat înainte de secreţia moleculei de Ig.

Secreţia moleculelor de Ig din plasmocit se face de regulă prin granulele secretorii. După încorporarea în citoplasmă a acestor granule, ele secretă conţinutul lor extracelular printr-un proces de *pinocitoză inversă*.

Mai multe studii sugeraseră, în trecut, că fixarea oligozaharidului pe molecula Ig ar avea drept scop asigurarea procesului de secreţie. Cercetări mai recente au demonstrat însă că rolul glucidelor în mecanismele de secreţie a Ig este nul, dealtfel şi în cele de sinteză a moleculei de Ig. Oligozaharidul nu pare să deţină rol nici în transportul intracelular al Ig, ci este mai degrabă efectul acestuia : la anumite nivele ale transportului are loc fixarea unor monozaharide, ca rezultat al legării moleculei Ig de structurile veziculei secretorii în etape diferite. Dealtfel, ataşa-

[24] În cazul moleculei de IgG, fixarea oligozaharidului se face la lanţul H, şi anume în domeniul C_H2.

rea monozaharidelor la molecula Ig se face sub acțiunea unor transglicozidaze fixate pe membrană, și care nu sînt specifice pentru molecula de Ig.

Secreția moleculelor de Ig are loc, uneori, in mod exploziv, ca rezultat al excreției de vacuole nucleare din plasmocit, a clasmatozei[25] acestuia sau chiar a citolizei plasmocitare. Aceste fenomene nu par să fie însă fiziologice, deoarece ele cauzează pierderi importante de material celular din fondul limitat de plasmocite.

Controlul secreției de molecule Ig nu este decit parțial cunoscut. Ig reprezintă 10—40% din totalul proteinelor sintetizate de plasmocit, dar în același timp constituie totalitatea proteinelor secretate de aceste celule. În mod normal, sinteza de lanțuri H și L este echilibrată (echimolaritate); în anumite condiții, însă, cum este cazul ganglionilor limfatici hiperimunizați, plasmocitele pot sintetiza și secreta un exces de lanțuri ușoare. În condiții patologice (mielom), de asemenea, are loc sinteza de lanțuri ușoare în foarte mare exces. Cu alte cuvinte, mutația la plasmocitom antrenează și un dezechilibru în balanța sintezei echimoleculare de lanțuri grele și ușoare. În unele linii celulare s-au putut evidenția convertiri spontane de plasmocite din producători de IgG în producători de lanțuri ușoare și, ulterior, chiar în neproducători de polipeptide Ig. Incidența unor astfel de convertiri este mare ($10^{-3}-10^{-4}$ per celulă per generație) și procesul este intensificat prin acțiunea agenților mutageni.

Mutageneza mărește și frecvența variațiilor de structură primară a lanțurilor Ig produse de linia plasmocitară. Astfel, spre exemplu, s-au observat variante rezultate din deleții care afectează cel mai des domeniul C3 al lanțurilor H, sau variante constînd din alterări ale lanțurilor H care duc la modificări de subclase ale moleculelor de Ig sintetizate și secretate.

Metabolizarea imunoglobulinelor urmează o cale similară cu cea a altor proteine plasmatice. Procesele de metabolizare au fost studiate cu ajutorul metodelor de radiomarcare și o sinteză a rezultatelor obținute, la specia umană, sînt prezentate în tabelul nr. 6.

Tabelul nr. 6

Metabolismul imunoglobulinelor umane

Caracteristica	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Rata de sinteză (mg/kg/zi)	33,0	6,7	24,0	0,4	0,016
Rata de catabolizare (procentul de degradare la nivel intravascular/zi)	6,7	18,0	25,0	37,0	89,0
Concentrația serică (mg/ml)	12,1	0,93	2,5	0,023	0,0003
Semiviața (în zile)	22,5	5,1	5,8	2,8	2,5
Concentrația intravasculară (%)	45	80	42	75	51

[25] Separarea și eliminarea de fragmente din citoplasma plasmocitului.

Catabolismul Ig prezintă o intensificare evidentă în cursul febrei. Relația dintre rata de degradare a Ig și concentrația sa serică depinde de clasa de Ig; astfel, în cazul IgG, catabolismul se accentuează pe măsură ce concentrația serică crește, și invers, ambele procese asigurînd în final o autoreglare a nivelelor IgG serice. În cazul IgA și IgM însă, catabolismul nu este afectat de concentrațiile serice, iar în cazul IgE și IgD catabolizarea crește atunci cînd nivelele serice sînt scăzute.

Investigațiile privind metabolismul diverselor fragmente din molecula de Ig au arătat că fragmentele Fab, ca și lanțurile L, au o semiviață foarte scurtă (mai puțin de 24 de ore), în timp ce fragmentele Fc au o semiviață comparabilă cu cea a moleculei integrale (22,5 zile pentru IgG).

IgG integrală are o semiviață practic de zece ori mai lungă decît molecula de IgE.

Așa cum rezultă și din tabelul nr. 6, în timp ce cea mai mare parte a moleculelor de IgG și IgA sînt localizate extravascular, moleculele de IgM și IgD sînt localizate preferențial intravascular.

3. *Principalele clase de Ig*

După cum s-a amintit (v. tabelul nr. 4), există 5 clase de Ig cunoscute în prezent; dintre acestea, IgG, IgE și IgD — sînt monomere, iar IgA și IgM polimere.

Imunoglobulinele G posedă o structură care corespunde formulei generale H_2L_2 și care a fost larg studiată la animale de laborator și la om (v. fig. 7 și tabelele nr. 4 și 7).

Anticorpii IgG participă la un mare număr de procese imune mediate umoral. La formarea situsului lor de combinare participă domeniile V_H și V_L. Domeniul C_H2 are fixat fragmentul oligozaharidic imunoglobulinic și, în cazul subclaselor IgG1, IgG2 și IgG3, conține situsul de fixare a complementului. Domeniul C_H3 este responsabil, în cazul IgG1 și IgG3, de fixarea citofilică pe macrofage a anticorpului; același fragment al regiunii carboxil-terminală asigură fixarea pe mastocite de la animale de diverse specii.

Toate subclasele de IgG umană sînt transferabile diaplacentar, de la mamă la făt.

Anticorpii IgG pot fi precipitanți, aglutinanți, fixatori de complement (hemolitici), anafilactizanți, citofili pentru macrofage etc.; nu posedă însă activitate reaginică propriu-zisă. Anticorpii IgG participă cu precădere la rezistența imună în infecțiile bacteriene, iar subclasele IgG2 și IgG4 constituie majoritatea anticorpilor față de antigenele polizaharidice.

Imunoglobulinele M sînt pentamere $(L_2H_2)_5$, astfel că au o greutate moleculară foarte mare (900 000 daltoni) și un coeficient de sedimentare 19S[26]. În prezență de 2-mercaptoetanol, în soluții tampon nedisociabile, IgM eliberează subunități monomerice, cu G.M. = 180 000 și 7,8 S; procesul este reversibil. Fiecare subunitate poate fi la rîndul său redusă,

[26] Motiv pentru care unii autori continuă să le denumească „macroglobuline".

separîndu-se lanțuri L *(kappa* sau *lambda)* cu G.M. = 23 000, lanțuri μ cu G.M. = 58 000 și oligozaharide, care corespund la 5–10% din G.M. totală a moleculei. S-au identificat, pe lanțurile μ, cîte cinci oligozaharide : unul legat de C_H1, altul în regiunea „balama", iar celelalte trei în fragmentul Fc (v. fig. 4). Supusă acțiunii enzimelor proteolitice, ca și molecula de IgG, pentamerul IgM eliberează fragmente de tip Fab și Fc, care au însă proprietăți distincte ; astfel, papaina și pepsina separă fragmente Fabμ sau $(Fab'\mu)_2$, iar tripsina separă fragmentul pentameric $(Fc\mu)_5$, cu G.M. = 340 000. Deoarece, prin reducere menajată, fragmentul pentameric eliberează cinci fragmente Fcμ, s-a ajuns la concluzia că molecula de IgM este constituită din 5 subunități legate între ele prin punți disulfurice, la nivelul segmentului carboxil-terminal al lanțurilor grele (fig. 12). Electronomicroscopia a confirmat structura stelată, cu 5 ramificații, a moleculei de IgM, în care fiecare monomer are forma în Y. Diametrul moleculei este de 32 nm, distanța de la centru la punțile disulfurice fiind de 8–10 nm, iar lungimea fiecărei ramificații de 6–8 nm.

Structural, molecula de IgM prezintă lanțuri ușoare identice cu cele ale IgG : *lambda* și *kappa*. În privința lanțurilor grele, însă, în afara

Tabelul nr. 7

Proprietățile claselor de Ig la specia umană

Caracterul	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Formula moleculară	$L_2\gamma_2$	$L_2\alpha_2$ sau $(L_2\alpha_2)_2$ JCS	$(L_2\mu_2)_5J$	$L_2\delta_2$	$L_2\varepsilon_2$
Greutatea moleculară	150 000	152 000 sau 385 000	900 000	175 000	190 000
Coeficientul de sedimentare	6–7 S	7–11 S	19 S	6,1 S	8,2 S
Conținutul în glucide (%)	2,5	5–10	5–10	5–10	11,5
Procentul din Ig totală serică	75–85	5–10	5–10	1	sub 1
Concentrația în serul adultului (mg/ml)	12,1	2,5	0,93	0,023	0,003
Conc. în serul nou născutului	13,5	–	0,1	–	3×10^{-5}
Conc. în ser la 6 luni	4,5	0,16	0,54	–	16×10^{-5}
Conc. în ser la 6 ani	9,6	1,01	0,76	0,011	65×10^{-5}
Conc. în ser la 14 ani	14,9	1,33	0,84	0,036	86×10^{-5}
Transfer diaplacentar	+	–	–	–	–
Activitate reaginică	–(?)	–	–	–	+
Fixare pe monocite	+	–	–	–	–
Fixarea complementului :					
– pe calea clasică	+	–	+	–	–
– pe calea alternativă	+	+	+	–	+
Momentul apariției după stimulul imunizant	tîrziu	intermediar	imediat	–	timpuriu
Valența pentru legarea antigenului	2	2	10(5)	?	2
Paraproteinemii asociate	mielom γG	mielom γA	macroglobulinemie Walderström	mielom γD	mielom γE sau ND

domeniului V_H, în regiunea constantă au fost identificate patru domenii distincte: Cμ1, Cμ2, Cμ3 şi Cμ4, separate prin patru grupări disulfurice interlanţ. Între lanţurile γ şi μ au putut fi evidenţiate zone de omologie a secvenţei aminoacizilor, cele mai importante fiind identificate între domeniile Cγ1 şi Cμ1, Cγ2 cu Cμ3 şi între Cγ3 şi Cμ4. Pe fiecare lanţ

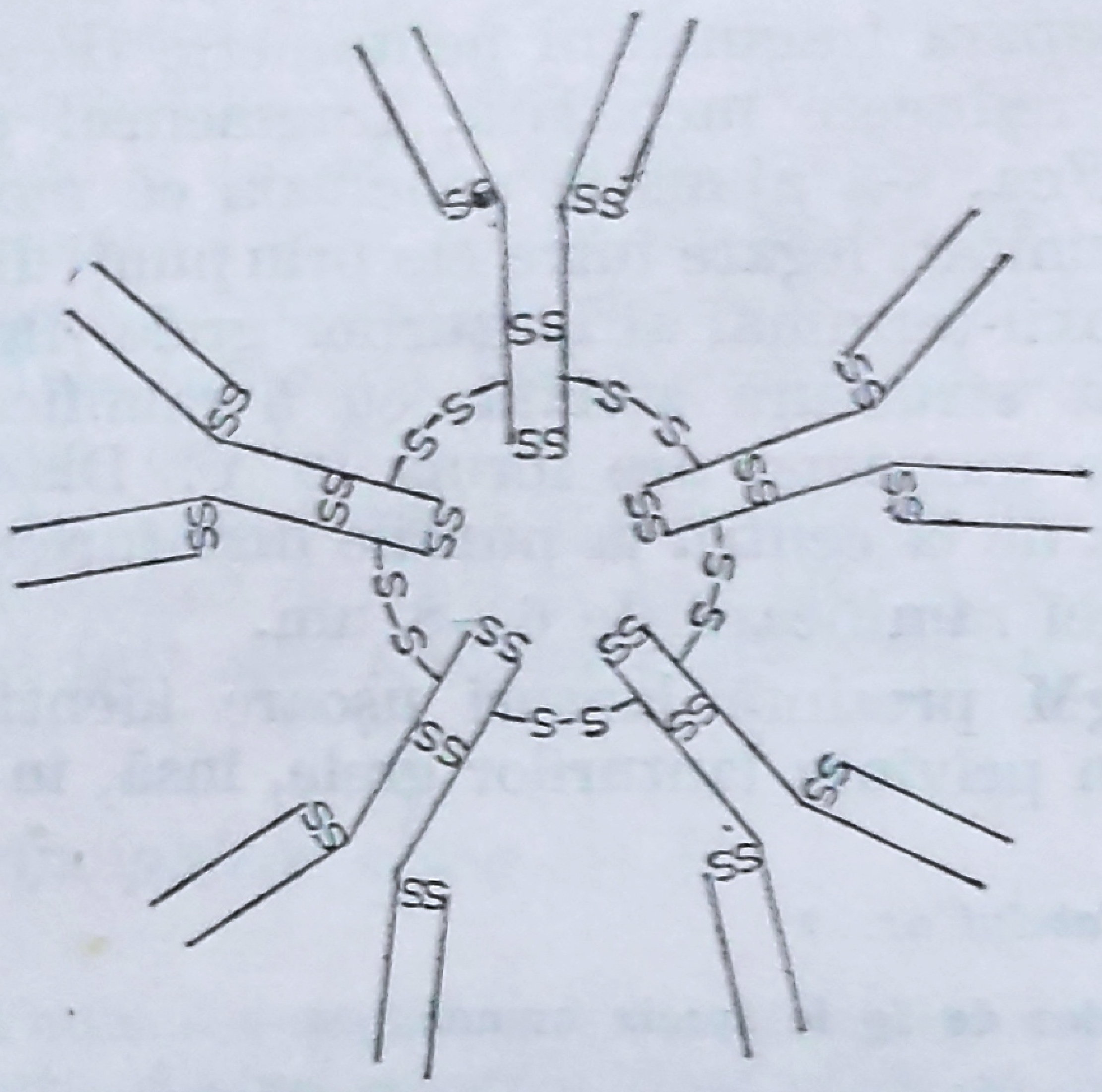


Fig. 12. — Structura schematică a moleculei pentamerice de IgM.

greu μ sînt fixate cîte 5 oligozaharide: două în domeniul Cμ1, două în Cμ3 şi unul în Cμ4. În funcţie de structura primară a lanţurilor grele, molecula de IgM se poate prezenta ca ***două subclase***: IgM1 şi IgM2. Fiecare monomer de IgM prezintă cîte două punţi disulfurice între lanţurile μ, iar întreaga moleculă cuprinde şi un polipeptid suplimentar — *lanţul J* — bogat în cisteină, cu proprietăţi acide accentuate şi cu o G.M. de 20 000 daltoni. Lanţul J este considerat că deţine un rol în polimerizarea pentamerului de IgM (tabelul nr. 7).

Situsurile anticorpice ale moleculei de IgM sînt, teoretic, în număr de zece, fapt demonstrabil experimental cu ajutorul unor antigene de talie mică: un mol de IgM este neutralizabil prin 10 moli de haptenă. Din cauza aglomerării spaţiale, însă, numai în mod excepţional pot fi funcţionale concomitent toate cele 10 situsuri de combinare. La iepure, spre exemplu, folosind metoda marcării prin afinitate, s-a constatat că o moleculă de anticorpi IgM prezintă cinci situsuri cu afinitate mare şi alte cinci cu afinitate slabă.

Molecula de IgM nu trece diaplacentar, de la mamă la făt. Este prima clasă de Ig care apare la noul născut şi tot prima care participă la răspunsul imun primar. Nu are activitate reaginică şi nu se fixează pe mastocite sau monocite. Este capabilă să fixeze complementul numai prin calea alternativă.

Anticorpii IgM apar în ser foarte devreme în răspunsul imun: la trei zile de la administrarea antigenului devin decelabili în ser, iar titrul lor maxim este atins la 5–6 zile. După circa 10 zile, concentraţia anticorpilor IgM scade masiv, fiind înlocuiţi prin anticorpi IgG (v. cap. III, A).

Imunoglobulinele A sînt prezente în serul sanguin, dar — sub formă de anticorpi — prezența lor este caracteristică secrețiilor mucoase: colostrul, saliva, lacrimile, mucusul bronșic și intestinal etc. În ser sînt prezente în mod predominant sub formă monomerică $L_2\alpha_2$, cu G.M. = 152 000 și 7S (tabelul nr. 4), iar în secreții domină forma dimerică secreto-rie 11S. Forma dimerică conține și un *lanț J*, fixat prin legături disulfu-rice; iar forma secretorie conține încă un lanț, denumit *componentă secre-torie* (CS), a cărui structură nu este încă precizată. Molecula de IgA secretorie are astfel formula $(L_2\alpha_2)_2$-J-CS (v. tabelul nr. 7).

Au fost identificate *două subclase* de IgA, și anume: IgA1, care reprezintă 93% din IgA serică și 75% din IgA secretorie, și IgA2, care participă 7% în ser și 25% în secreții. IgA2 prezintă lanțurile ușoare sub formă de dimer, stabilizat printr-o punte disulfurică; alte cinci legături disulfurice există între fiecare lanț L și lanțul H corespunzător.

Lanțurile α au G.M. = 50 000, la care se adaugă molecula oligo-zaharidică (5—10%). Sub acțiunea enzimelor proteolitice, lanțurile α eliberează fragmente Fabα, Fcα și $(Fab'\alpha)_2$. Aceste lanțuri prezintă un domeniu V_H și trei domenii Cα; ultimul domeniu Cα3 prezintă o mare omo-logie (50—60%) cu domeniul Cμ4 al IgM.

Microscopia electronică a indicat o structură în Y pentru moleculele IgA atît mono-, cît și dimere. IgA dimer se prezintă însă ca un dublu Y, legați împreună de-a lungul aceleiași axe la capătul carboxil-terminal al lanțurilor grele; cele 4 fragmente Fab sînt orientate, două cîte două, în direcții opuse. Poziția lanțului J nu a putut fi determinată electronooptic.

IgA nu se transferă diaplacentar, dar este secretată în mari canti-tăți cu colostrul, ceea ce asigură nou născutului o protecție corespunză-toare (noul născut nu sintetizează IgA) (tabelul nr. 7).

IgA nu are proprietăți de anticorp citofil și nici activitate reaginică; constituie un activator eficace al sistemului complement, dar numai prin calea alternativă.

Funcția de bază a anticorpilor IgA se desfășoară la nivelul mucoa-selor și secrețiilor, asigurînd procesele de apărare locală.

Imunoglobulinele D sînt prezente în ser în cantități mici (tabelul nr.7) și cunoștințele privind structura și rolul lor imunologic sînt reduse.

IgD sînt monomere, au o constantă de sedimentare 6,1—6,2 S și o G.M. de 175 000 (sau 180 000), net superioară monomerilor de IgG și IgA. Datorită discrepanței dintre constanta de sedimentare și greutatea moleculară, rezultă că molecula de IgD trebuie să fie mai compactă decît alte molecule de Ig, fapt care corespunde și cu sensibilitatea sa mai mare la proteoliză.

Lanțurile H de IgD au o greutate moleculară de 55 000—59 000, la care se adaugă 5—10% oligozaharide. Între lanțurile grele există o sin-gură legătură disulfurică.

Datele privind structura IgD au fost stabilite pe produsul elaborat de mielom IgD Rowe. În ceea ce privește rolul lor biologic, cunoștințele actuale sînt foarte reduse. S-a precizat că molecula de IgD deține rol de receptor pe unele limfocite B, care dealtfel pot purta, simultan, și mole-cule de IgM. În ceea ce privește rolul efector imunologic al IgD, încă nu sînt elemente precizate (tabelul nr. 7).

Într-un studiu privind receptorii de tip IgD de pe limfocitele B, Kermani-Arab și colab. (1977) constată că sinteza de DNA în aceste celule este activată cînd limfocitul purtător de IgD este stimulat cu anticorpi anti-δ. Asemenea limfocite stimulate, care poartă IgD, demonstrează un efect de potențare asupra răspunsului limfocitelor T la PHA. Rezultatele lui Kermani-Arab și colab. sugerează un rol catalizator al IgD pentru limfocitul T și, în general, un rol regulator pentru diferențierea celulară.

Imunoglobulinele E sînt cele care asigură realizarea răspunsului imun de tip „reaginic". În serul sanguin se pot pune în evidență concentrații foarte reduse de IgE (tabelul nr. 7).

Molecula de IgE are o greutate moleculară de 190 000, o constantă de sedimentare 8, 2 S, un conținut în glucide de 11—12% și este monomeră. Sub acțiunea enzimelor proteolitice eliberează două fragmente Fab și unul Fc. Lanțul greu ε are o greutate moleculară de 61 000 și include 537 reziduuri de aminoacizi și cinci legături —S-S— interlanț, dintre care una în regiunea V_H și alte patru în regiunea constantă, delimitînd patru domenii $C_ε$. În regiunea constantă sînt fixate 6 molecule oligozaharidice, dintre care trei pe domeniul $C_ε1$, una pe $C_ε2$ și două pe $C_ε3$.

Domeniul $C_ε4$ nu leagă oligozaharide, însă conferă moleculei de IgE proprietatea particulară de a se fixa pe celule autologe[27].

IgE se fixează pe bazofile și pe mastocitele țesutului conjunctiv subdermic, provocînd stimularea acestor celule ca să elibereze mediatori farmacocinetici variați, în special de tipul histaminei. Acest mecanism constituie substratul acțiunii IgE în multiple procese de *hipersensibilitate imediată*, de tipul șocului anafilactic, astmului, febrei de fîn, urticariei și altor fenomene „reaginice" (v. cap. III, B).

F. *Sistemul complement*

Studiile inițiale ale lui Jules Bordet, întreprinse la sfîrșitul secolului trecut (1895—1898), au evidențiat existența în serul normal și/sau imun a unor substanțe care, în colaborare cu anticorpi specifici pentru o celulă, pot determina citoliza acesteia. Substanțele din ser care au acest rol „complementar" în citoliza imună au fost denumite „alexină" de către Bordet; ulterior, Ehrlich a introdus termenul de *complement*.

Complementul este un sistem complex, care conține un număr mare, încă incomplet determinat, de componente globulinice serice, dintre care majoritatea sînt termosensibile la 56°C. Pentru a participa la reacții imune complementul trebuie în prealabil „activat" (C→C'), acest proces fiind rezultatul unor reacții „în cascadă", în care odată activată o primă componentă, se declanșează o suită de reacții succesive de activare a celorlalte componente. Activarea sistemului complement are fie o bază imunologică (activare prin complexe antigen—anticorp), fie neimunologică (activare prin endotoxine).

---

[27] Domeniul $C_ε4$ al IgE prezintă o mare omologie cu domeniul $C_γ3$ al IgG. În plus, așa cum subliniază Bach (1978), este demn de remarcat că molecula IgG, care este lipsită de un domeniu $C_γ4$, se fixează pe mastocite și macrofage de la alte specii prin intermediul domeniului $C_γ3$.

Sistemul complement intervine nu numai în procesele de citoliză, ci și în alte fenomene imune (fagocitoză, chimiotactism, anafilaxie etc.) sau neimune (coagularea sîngelui, infarctizări etc.).

Inactivarea sistemului complement (C) se poate obține prin: (*a*) factori fizici (încălzire la 56°C, adsorbție pe caseină, kieselguhr, cărbune activat etc.): (*b*) factori chimici (acizi, baze, amine primare, eter, cloroform, alcool, săruri biliare, esteri ai acizilor grași etc.); (*c*) factori biologici (inhibitori prezenți în serul sanguin, extracte tisulare sau bacteriene enzime proteolitice și, în unele cazuri, veninuri, levuri etc.).

1. *Calea clasică de activare a complementului*

Cele 9 componente (C1—C9) ale complementului care participă la calea clasică — imună — de activare pot fi grupate în 3 categorii funcționale: (*a*) unitatea de recunoaștere; (*b*) grupul de activare; (*c*) grupul de atac (fig. 13).

Unitatea de recunoaștere a complexelor antigen—anticorp și a moleculelor de IgG agregate este un complex molecular format din 3 proteine: $C1_q$, C1r și C1s, legate prin ioni de calciu[28].

$C1_q$ este veritabila unitate de recunoaștere. Are o G.M. mare (tabelul nr. 8) și este constituită din 6 subunități de cîte 3 polipeptide grupate în triplu helix, bogate în glicină și hidroxilizină, conținînd și polimeri de glucoză (ca în cazul colagenului). Complexul are structură globulinică și este termolabil (56°C).

Tabelul nr. 8

Principalele caracteristici ale componentelor sistemului complement

Componentul	G.M.(S)	Mobilitatea electroforetică	Termosensibilitatea	Concentrația serică (μg/ml)	Componentele rezultate prin clivare
$C1_q$	388 000 (11S)	γ_2	+	190	
C1r	168 000 (7S)	β	++	?	
C1s	80 000 (4S)	α_2	0	120	C1s(G.M. 33 000)
C4	240 000 (10S)	β_1	0	430	C4a, C4b } C3-convertază
C2	117 000 (5,5S)	β_2	++	30	C2a, C2b } C3-convertază
C3	180 000 (8,7S)	β_1	—	1300	C3a, C3b
C5	185 000 (9,5S)	β_1	—	75	C5a, C5b
C6	125 000 (5,8 S)	β_2	+	60	
C7	120 000 (5,7 S)	β_2	—	?	
C8	150 000 (8S)	γ_2	+	30	
C9	79 000 (4,5S)	α	—	1	

[28]) A fost descrisă și o a patra subcomponentă, C1t, care ar avea calitatea de a stabiliza macromolecula C1, fără a participa la funcția de recunoaștere. Mai mulți autori consideră însă că C1t este un contaminant în preparatele de C1 (Möller, 1976).

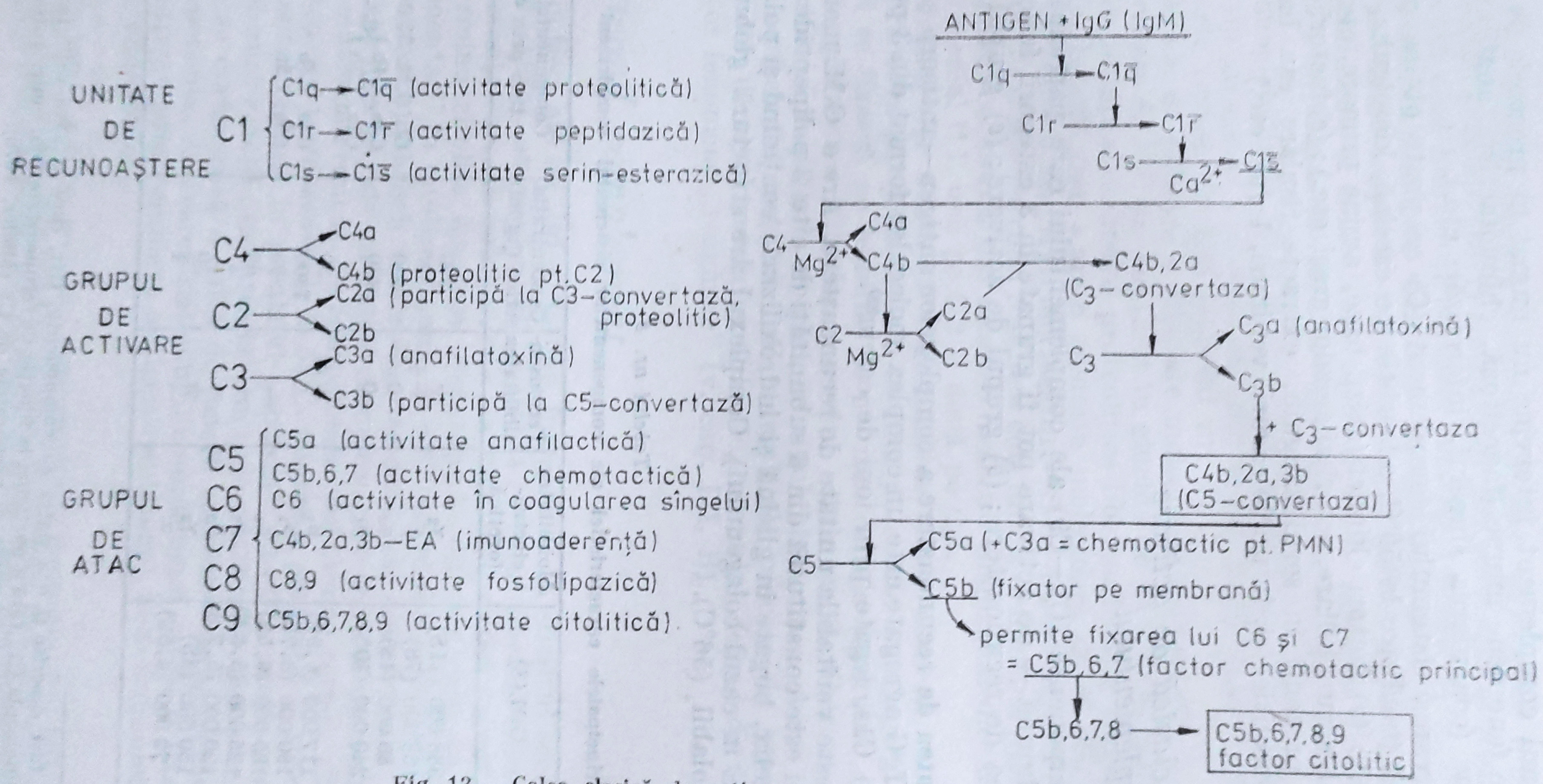


Fig. 13 — Calea clasică de activare a sistemului complement.

Componenta C1q este hexavalentă şi se leagă puternic de IgM, IgG1 şi IgG3, ceva mai slab de IgG2 şi deloc de IgG4, IgA, IgE şi IgD. Fixarea componentei C1q pe molecula IgG sau IgM nu are loc decît după ce aceste molecule de anticorp au reacţionat cu antigenul. Prin această reacţie, molecula de anticorp işi modifică structura spaţială : în cazul IgG, spre exemplu, din forma în T, prin unirea cu antigenul, anticorpul ia forma în Y (fig. 14), făcînd accesibil domeniul C_H2 pentru fixarea componentei C1q. În cazul moleculelor de IgM, legarea complementului se face la nivelul domeniului amino-terminal C_H4 ; acest domeniu are o structură primară asemănătoare cu cea a β_2-microglobulinei umane[29], care şi ea poate fixa C1q.

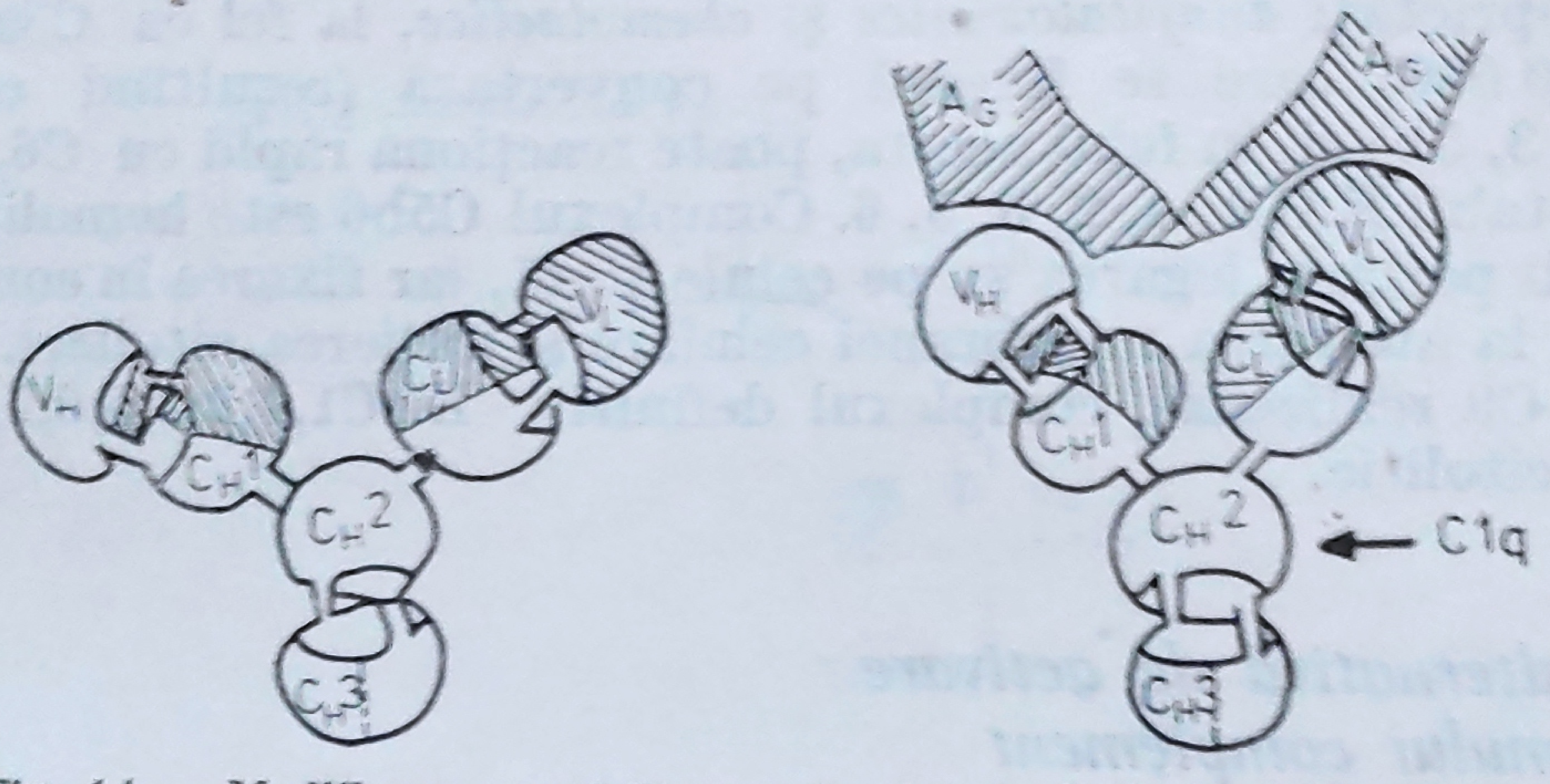


Fig. 14. — Modificarea spaţială a moleculei de IgG după fixarea antigenului specific. Forma în X, *în stînga;* forma în Y, *în dreapta.*

O singură moleculă hemolizinică IgM este suficientă pentru a forma, în prezenţa complementului, un situs citolitic pe suprafaţa unei hematii ; în timp ce, în cazul anticorpilor IgG, sînt necesare două asemenea molecule („dublet IgG'') pentru a realiza un efect similar. Devine astfel explicabilă existenţa de anticorpi IgG fixatori de complement dar necitolitici, în cazurile în care densitatea determinanţilor antigenici de pe suprafaţa celulei ţintă este prea mică pentru a permite constituirea de „dublete IgG'' (cazul situsurilor antigenice RhD de pe hematii).

Ca urmare a activării componentului C1q prin fixarea sa pe complexul antigen—anticorp (EA = eritrocit-anticorp), rezultă modificări alosterice care antrenează activarea lui C1r şi, în continuare, clivarea lui C1s în două fragmente, dintre care cel mai mic (G.M. = 33 000) are proprietăţi esterazice.

Grupul de activare al sistemului complement cuprinde secvenţa C4→C2→C3 şi are drept efect principal formarea C3-convertazei.

C3-convertaza este rezultatul unirii fragmentelor C4b, 2a, rezultate din activarea componentelor C4 şi C2 (fig. 13). Unirea acestor fragmente are loc cînd este format complexul EAC1, 4b, la care se leagă C2a. C4b, 2a este foarte labil, avînd o semiviaţă de numai 10 min la 37°C.

Sub acţiunea C3-convertazei, componentul C3 este scindat în : C3a (G.M. = 8 700), care manifestă proprietăţi *anafilatoxinice* şi *chemotac-*

[29] β_2 - microglobulina constituie lanţul uşor al structurii receptorilor pentru antigen ai limfocitului T (v. cap. II, A).

tice, şi C3b (G. M. = 223 000), care se leagă de receptorii specifici pentru C' ai membranei celulare. Împreună cu C3-convertaza, C3b formează complexul C4b, 2a, 3b, cunoscut sub numele de C5-convertaza, din cauza acţiunii sale specifice asupra componentului C5.

Dintre moleculele C3b numai cele fixate pe complexul antigen—anticorp (formînd EAC1, 4, 2, 3) sînt hemolitice. Restul moleculelor C3b posedă însă proprietăţi imunologice importante, participînd la *imunoaderenţă* şi *opsonizare*.

Grupul de atac reprezintă în fapt finalizarea mecanismului în cascadă de ,,activare'' a complementului şi de declanşare a citolizei. Sub acţiunea C5-convertazei, se formează două fragmente : C5a (G.M. = 15 000) care are proprietăţi *anafilatoxinice* şi *chemotactice*, la fel ca C3a, şi C5b (G.M. = 170 000) care se fixează pe convertază (rezultînd complexul EAC1, 4, 2, 3, 5b) şi, în felul acesta, poate reacţiona rapid cu C6, formînd complexul stabil EAC1, 4, 2, 3, 5, 6. Complexul C5b6 este hemolitic ; fixarea lui C7 îi permite legarea sa pe celule ţintă, iar fixarea în continuare a lui C8 duce la alterarea membranei celulare şi iniţierea citolizei. În final, fixarea lui C9 realizează complexul definitiv EAC1,4,2,3,5,6,7,8,9, care este rapid citolitic.

2. *Calea alternativă de activare a sistemului complement*

Au fost descrise o serie de cazuri în care activarea complementului se poate realiza în absenţa componentelor C1, C4 şi C2 (Alper şi Rosen, 1976). În asemenea situaţii, activarea iniţială se exercită la nivelul componentei C3, care — prin intermediul C5—convertazei — iniţiază formarea complexelor C5b,6,7,8,9, citolitice (fig. 15). Calea alternativă de activare este deci o cale scurtă (*shunt*). Această ,,şuntare'' este posibilă graţie existenţei în ser a unei proteine cu activitate de *proactivator pentru C3* (PA-C3). Acest factor este o β_1-globulină, cu G.M. = 100 000 daltoni, termolabilă la 50°C, avînd o concentraţie serică de 100—200 μg/ml. PA-C3 este activat printr-o globulină cu G.M. = 25 000 şi funcţie esterazică (,,factor D''). O altă γ-globulină, cu G.M. = 223 000 (properdina) poate reacţiona cu C3b, influenţînd activitatea C3b-dependentă. La reacţie participă şi o pseudoglobulină cu migrare electroforetică β şi coeficient de sedimentare 6,5 S, care este considerată drept ,,factor de iniţiere''.

Formarea C3-convertazei în calea alternativă este rezultatul clivării fragmentului C3b în prezenţa PA-C3 activat. Moleculele C3b, într-o fază ulterioară, printr-un ciclu feedback, stimulează formarea C5-convertazei datorită acţiunii stabilizatoare a properdinei (fig. 15).

Activarea factorului PA-C3 seric are loc atît sub acţiunea unor reacţii imune, cît şi a unor procese nespecifice imunologic. Dintre reacţiile imune, la cobai anticorpii γ_1 în contact cu antigenele specifice pot activa calea alternantivă. Locul de activare în aceste cazuri este prezent pe fragmentul $F(ab')_2$(5S) al moleculelor γ_1.

La om, complexele între antigen şi anticorpii specifici IgA s-au dovedit activatori ai căii alternantive (Möller, 1976), iar mai recent s-a

demonstrat un efect similar pentru molecule anticorpice aparţinînd claselor IgM, IgE şi IgG (1–4).

Polizaharidele de tip inulinic, endotoxinele bacteriilor Gram-negative, zimosanul şi veninul de cobra au fost identificaţi ca activatori neimunologici ai căii alternative.

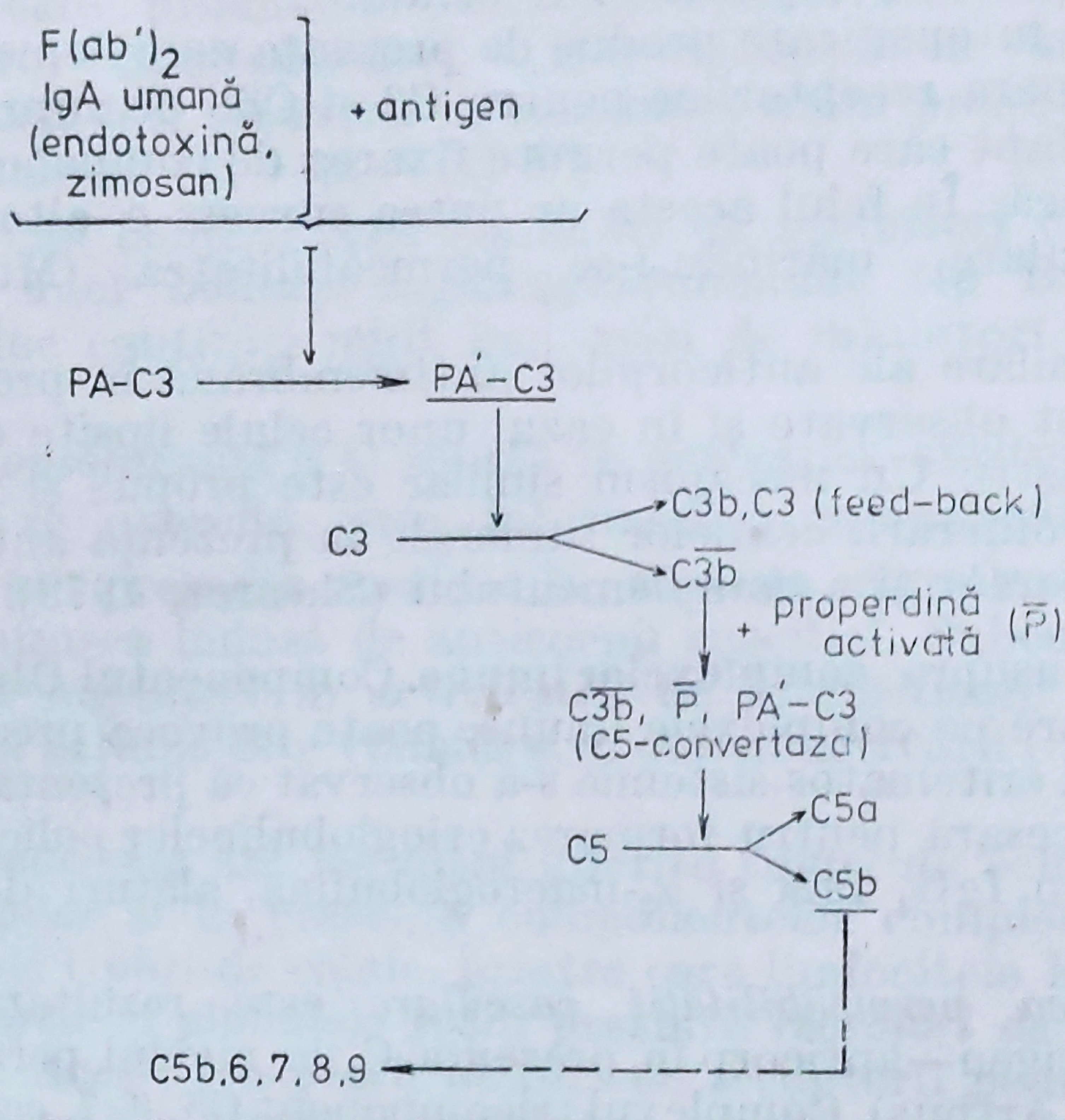


Fig. 15 — Schema de funcţionare a căii alternative a sistemului complement.

3. *Fenomene imunitare la care participă sistemul complement*

Procesele biologice la care participă componentele sistemului complement sînt numeroase şi variate.

Citoliza imună este unul din fenomenele majore la care contribuie complementul. Fenomenul este rezultatul deteriorării membranei celulare, care are loc sub acţiunea fosfolipazică a complexului **EAC5b...9.** La nivelul situsului de fixare a acestui complex se constituie un orificiu care permite procese osmotice în ambele sensuri (K extracelular, Na intracelular) şi duce, în final, la umflarea celulei şi la liză.

Acest tip de citoliză este foarte frecvent în procesele imune de bacterioliză, hemoliză, liză prin limfocite B şi prin macrofage activate, care posedă receptori pentru Fc. Citoliza prin celule K („ucigaşe") nespecifice, ca şi citoliza prin lizozim sînt diferite ca mecanisme efectoare.

În *infecţiile virale* uzuale (varicelă, pojar şi alte viroze ce dau leziuni tegumentare), s-a constatat liza celulelor afectate viral (celule epiteliale, neurale, limfoide) ca urmare a intervenţiei C şi a anticorpilor specifici antivirali, care de obicei sînt IgA (în cazul pojarului sînt IgG). În aceste cazuri, activarea C are loc pe calea alternativă.

La om, sistemul complement este litic direct pentru oncornavirusuri.

Amplificarea imunostimulării poate de asemenea să rezulte din acțiunea complementului, care poate altera parțial membrana celulelor imunocompetente, amplificînd schimburile metabolice. În acest sens pledează o serie de experimente întreprinse pe celule limfoide de șoarece și om, care, în prezența complementului, prezintă o intensificare a încorporării de nucleozide, a sintezei DNA și a proliferării celulare.

Efectul de intensificare produs de prezența complementului poate fi corelat cu existența receptorilor pentru C3 și C3b pe suprafața celulelor limfoblastoide, fapt care poate permite fixarea de componente C′ cu activitate proteolitică. În felul acesta ar putea surveni o alterare parțială a membranei celulare, mărindu-i-se permeabilitatea (Müller-Eberhard, 1975)

Efecte similare ale anticorpilor antimembrană în prezența complementului au fost observate și în cazul unor celule lipsite de competență imună (fibroblaști). Un mecanism similar este propus și pentru efectul paradoxal al proliferării celulelor tumorale în prezența anticorpilor antimembrană tumorală și a complementului (Shearer, 1973).

Acțiunea asupra complexelor imune. Componentul C1q, prin capacitatea sa de legare pe complexele imune, poate provoca precipitarea acestora. În lupusul eritematos sistemic s-a observat că prezența componentului C1q este necesară pentru formarea crioglobulinelor policlonale amestecate, care conțin IgG, IgM și α_2-macroglobulină, alături de C1q (v. cap. VII, C).

Modificarea permeabilității vasculare este rezultatul precipitării complexelor antigen—anticorp în prezența C, la nivelul pereților vasculari (fenomen de tip Arthus). Complexul tricomponent C5, 6, 7 care se formează în aceste condiții este puternic chemotactic pentru polimorfonucleare, antrenînd constituirea unei veritabile *vascularite imunologice* (v. cap. VI). Un mecanism similar are loc în *artrita reumatoidă,* unde acumularea de polimorfonucleare în lichidul sinovial este de asemenea rezultatul formării complexului C5,6,7 (v. cap. VII, D2).

Pe de altă parte, s-a demonstrat că componentul C2 poate libera un peptid (G. M. = 5 000) care, prin inoculare subcutană, provoacă o creștere rapidă a permeabilității capilare (insensibilă la antihistaminice). Acest mecanism pare să fie la baza permeabilității vasculare crescute din edemul angioneurotic ereditar.

Anafilatoxinele (C3a și C5a) sînt formate în cursul procesului de fixare a C pe complexele antigen-anticorp. Inoculate subcutan, aceste substanțe provoacă eritem; inoculate intravenos, declanșează șoc anafilactic letal.

Anafilatoxinele induc creșterea permeabilității vasculare și contracția fibrelor musculare netede, fie direct, fie ca urmare a degradării mastocitelor și bazofilelor, care *eliberează mediatori histaminici.*

Acțiunea asupra leucocitelor este diversificată; chemotactică, opsonizantă, de aderență, eliberatoare de enzime lizosomale etc.

Chemotaxia este rezultatul acțiunii a trei factori: C3a (G.M. =40 000), C5a (G.M. = 30 000) și C5b,6,7 (macromolecular).

C3a a fost identificat în artritele inflamatorii nereumatoide (boala Reiter, spondilite, artrite asociate unor enterite), care sînt artrite acute,

cu prezența polimorfonuclearelor în lichidul articular. În majoritatea acestor cazuri, activarea lui C3 se face pe calea alternativă, sub acțiunea diverșilor factori toxici.

C5a este mai activ decît C3a și, de asemenea, este chemotactic pentru polimorfonucleare.

C5b,6,7 este produs sub influența convertazei C5, atît prin calea clasică, cît și prin cea alternativă. A fost evidențiat în vascularitele imunologice și în lichidele sinoviale reumatoide, unde provoacă acumularea de polimorfonucleare (v. cap. VII, D).

Serul normal conține mici cantități de inhibitori chemotactici, în timp ce serul unor bolnavi (agamaglobulinemia tip Bruton, maladia Hodgkin) conține cantități mult mai mari de inhibitori ai activităților chemotactice.

Acțiunea opsonizantă a C constă în activarea efectului anticorpilor opsonizanți și se exercită prin intermediul componentelor C1,4,2,3; absența lui C3 sau prezența acestuia în absența complexului C1,4,2 nu afectează opsonizarea indusă de anticorpii specifici. Subcomponenta C3b apare ca direct implicată în activitatea de intensificare a opsonizării, deoarece această acțiune este vizibilă și în cursul activării C pe calea alternativă.

Imunocitoaderența are loc între diferite tipuri de celule, prin intermediul anticorpilor și în prezența componentelor complementului (C3b și C4b). Multiple tipuri de celule, printre care limfocitele B, macrofagele, polimorfonuclearele și globulele roșii, prezintă *receptori de suprafață pentru complement*. Acești receptori, alături de receptorii pentru fragmentul Fc al IgG, pot realiza punți intercelulare prin intermediul complexelor antigen—anticorp—complement. Același mecanism poate mijloci legarea limfocitelor B la nivelul țesuturilor unde se află complexe antigen—anticorp—complement. În același sens, opsonizarea poate fi considerată un caz particular al imunocitoaderenței: aderența antigenului la fagocit prin intermediul anticorpilor specifici și complementului, pentru care fagocitul are receptori de suprafață.

Reacțiile de imunoaderență pot fi inhibate prin procese de *conglutinare*. Imunoconglutininele sînt izo- sau autoanticorpi de tip IgM sau IgG cu specificitate pentru componentele C3 și C4. Acești anticorpi blochează componentele respective, care nu mai pot participa la procesele de imunocitoaderență.

Eliberarea enzimelor lizosomale poate fi realizată de componentul C5a în mod direct, în absența proceselor fagocitare. Molecula C5a poate fi fixată de receptori specifici de pe suprafața fagocitelor, proces care are ca rezultat o creștere a nivelului cGMP. Nivelul crescut de cGMP influențează microtubii ce reglează mișcările intracelulare ale granulelor lizosomale, rezultînd fuziunea lizosomilor cu membrana celulară și, concomitent, extracelularizarea conținutului enzimatic lizosomal.

Dezvoltarea procesului inflamator este rezultatul unui lanț de fenomene la care participă și sistemul complement: atracția chemotactică a leucocitelor, reținerea lor prin imunocitoaderență, permeabilizarea pereților vasculari (rezultînd edemul hemoragic), punerea în libertate de

7 — c. 825 34

mediatori histaminici, eliberarea de enzime lizosomale (rezultînd necroză) etc. Lanţul de procese amintit este supus unor fenomene de autoamplificare.

Componentele C3a şi C5a au proprietăţi anafilactoxinice : cauzează degranularea mastocitelor şi bazofilelor, cu liberare de histamină, 5-hidroxitriptamină, SRS (slow-reacting substance) şi factor chemotactic eozinofilic al anafilaxiei. De asemenea, sub acţiunea lui C3b celulele fagocitare suferă activarea lizosomilor citoplasmatici, urmată de intensificarea fagocitării şi a capacităţii bactericide (v. cap. II, C).

Între sistemul complement şi *activarea macrofagelor* s-au evidenţiat strînse corelaţii. Proprietăţile particulare ale macrofagelor „activate" (aderenţă crescută şi etalare pe suprafeţele de sticlă şi/sau plastic, intensificarea ratei pinocitare, secreţia de proteaze neutre, capacitatea de a fagocita particule învelite cu IgM şi C3) pot fi induse *in vitro* prin substanţe care activează complementul prin calea alternativă (endotoxină, zimosan, agar etc.), iar *in vitro* prin prezenţa complementului activat sau, direct, a componentei C3b (Pepys, 1978 ; Păunescu, 1980).

Activităţile nespecifice imunologice ale complementului sînt numeroase, însă mai bine precizată a fost interacţiunea cu sistemul de coagulare şi fibrinoliză. Activatorul plasminogenului este o enzimă inductibilă, secretată de macrofagele activate prin endocitarea de particule nedigerabile (latex) sau de tioglicolat ; iar implicarea complementului în procesele de coagulare rezultă din mai multe date : şoarecii cu deficit în C6 manifestă un deficit de coagulare care poate fi neutralizat prin administrarea unui preparat purificat de C6 ; este posibilă accelerarea coagulării sîngelui prin complexe imune ce conţin complement ; procesele de coagulare intravasculară, ce însoţesc la om unele dezechilibre imune, sînt mediate de complement etc.

4. *Sinteza componentelor complementului*

Componentele globulinice ale complementului sînt în mare majoritate sintetizabile direct de către macrofage, dar şi de către hepatocit. Dovezi în acest sens au fost aduse pentru fracţiunile C2, C3, C9 şi C4, ultima fiind sintetizată în mari cantităţi de către hepatocit.

Macrofagele sintetizează C1, C4, C2 şi C3. Componentele C1q şi C1s sînt sintetizate şi de fibroblaste.

La cobai, studiile iniţiale ale lui Colten (1974) au evidenţiat sinteza componentei C1 la nivelul celulelor epiteliale intestinale.

Sinteza C are loc încă din viaţa embrionară ; prezenţa C a fost evidenţiată la embrionul de găină, la fătul de şoarece, de oaie şi de bovidee. La naştere, organismul conţine cam jumătate din concentraţia serică în C de la adult. După primele trei luni de viaţă, concentraţia serică a C atinge nivelele întîlnite la adultul normal.

Bioreglarea sistemului complement este un proces complex. Datele rezultate din studiile de deficienţă ereditară a complementului la om au arătat, în mod cert pentru componentele C2 şi C4, o reglare a sintezei prin gene amplasate pe cromosomul 6, în regiunea sistemului major de histo-

compatibilitate. Observaţii similare au fost făcute şi la şoarece, unde componentele C4 şi C3 sînt reglate de gene localizate în regiunea complexului H—2 (v. cap. I, E).

O serie de *inhibitori serici ai C* au fost evidenţiaţi ca realizatori ai menţinerii nivelului C în anumite limite, compatibile cu homeostazia generală a organismului. Astfel, a fost identificat un inhibitor al componentei C1, care se găseşte în serul normal sub formă de alpha-2-globulină (G.M. = 90 000), într-o concentraţie de 150—180 μg/ml. Acest inhibitor se combină stoichiometric cu C1s (C4-esteraza), împiedicînd activarea lui C4 ; viteza de legare a lui C1s cu inhibitorul este însă de obicei mai mică decît viteza de reacţie cu C4, astfel că blocarea activării lui C4 are loc numai în exces de C1s.

Inhibitorul lui C1 poate de asemenea acţiona şi asupra lui C4b,2a, reducînd cantitatea de C3-convertază.

Inhibitorul componentei C3b este o beta-2-globulină serică (G.M. = 10 000) şi are rolul de a diminua nivelul de C3b, prin scindarea sa în două fragmente (beta-1 şi alpha-2) inactive. O concentraţie mai mică de C3b semnifică mai puţină C5-convertază, ceea ce înseamnă în final o liză celulară mai redusă.

S-a constatat existenţa unei beta-1-globuline serice, care poate inhiba componentul C6 (rezultînd o reducere a eficienţei citolitice, dar şi o scădere a coagulabilităţii sanguine). O proteină serică, cu G.M. = 310 000 şi mobilitate electroforetică alpha-2, avînd activitate arginin-carboxilazică, s-a constatat că poate scinda arginina terminală a componentelor C3a şi C5a, inactivîndu-le.

Reglarea activităţii sistemului complement mai este asigurată şi prin mecanismele de activare a C şi în mod particular de raportul anticorp/ antigen din cadrul complexelor imune. O valoare supraunitară a acestui raport inhibă iniţierea activării, ca urmare a blocării fixării C1q (deoarece domeniul C_H2 din molecula IgG nu se „descoperă" suficient). Optimul de activare a complementului se realizează la valori unitare ale raportului anticorp/antigen în complexele imune.

5. *Patologia sistemului complement*

Cea mai comună anomalie legată de sistemul complement o constituie *hipercomplementemia,* care se constată în cele mai multe procese inflamatorii, infecţioase şi în bolile maligne. De obicei, concentraţia totală a complementului se dublează sau se triplează, iar componentele C4, C3 şi C9 cresc cel mai mult.

Hipocomplementemia este mult mai rară şi ea poate fi cauzată fie prin consum de complement, fie prin catabolism accentuat, fie prin sinteză scăzută a uneia sau mai multor componente din sistem.

Consumul crescut de complement se observă în multe sindroame cu componentă imună (lupusul eritematos sistemic, glomerulonefrita postscarlatinoasă, endocardite bacteriene, rejecţii de homogrefe, anemie hemolitică autoimună, hemopatii maligne, tiroidita Hashimoto, artrită reumatoidă etc.). Consum crescut de C s-a observat şi după şocul prin endotoxină (infecţii masive cu Gram-negativi), malarie etc.

Consumul exagerat de C se face mai ales pe seama componentelor C1, C4, C2 şi C3 ; nivelele sanguine ale C5 şi C9 de obicei rămîn normale. Dacă activarea complementului are loc prin calea alternativă (ca în cazul glomerulonefritei membranoproliferative), atunci nivelele serice ale C1, C4 şi C2 rămîn în limite normale.

Multe boli glomerulare se însoţesc de eliminare urinară de componente C, fapt care antrenează de asemenea hipocomplementemie.

Insuficienţa hepatică duce la sinteză deficitară a componentelor C4, C2 şi C3. De obicei, în cazurile de ciroză, hepatită cronică sau hepatită virală acută severă, hipocomplementemia se însoţeşte şi de reducerea sintezei de colesterol, albumină şi factori ai coagulării.

Malnutriţia, în particular cea prin aport proteic insuficient, afectează şi sinteza sistemului complement.

Deficienţele ereditare în sinteza unor componente ale sistemului complement sînt de obicei transmise prin gene autosomale recesive.

La cobai s-au evidenţiat deficienţe ale componentei C4, care sînt bine tolerate ; se observă numai anomalii ale răspunsului anticorpic la doze mici de antigen şi ale ratei de clearance a hematiilor sensibilizate. La şoarece, deficienţa ereditară în C5 antrenează reacţii scăzute ale alergiei pasive cutanate, reducerea răspunsului la infecţii cu germeni saprofiţi şi o creştere a sensibilităţii la leucemia indusă prin carcinogeni chimici. Deficienţa în C6, la iepure, antrenează ineficienţa bacteriolizinelor, diminuarea răspunsului cutanat mediat celular şi întîrzierea rejecţiei grefelor.

La om, au fost descrise numeroase deficienţe ereditare ale componentelor complementului. Cele mai frecvente sînt deficitele în C2 (uneori duc la lupus eritematos sistemic), în C1q (hipogamaglobulinemie), în C5 (infecţii rare). Deficienţele în C3, C4, C6 şi C7 sînt excepţionale ca frecvenţă şi bine tolerate. S-au semnalat frecvente cazuri de deficit al inhibitorului C1s, care se însoţesc de edem angioneurotic. Deficitul în inhibitor C3b este foarte rar şi favorizează infecţiile.

Deficitele ereditare, cauzate recesiv autosomal, sînt de regulă fără semne clinice la heterozigoţi. Persoanele homozigote sînt cele afectate clinic şi de obicei prezintă sensibilitate anormală la infecţii.

III

Tipuri principale de răspuns imun

Reacţiile de răspuns imun sînt iniţiate de contactul dintre antigen şi celulele imunocompetente ; manifestarea acestor reacţii este însă în ultimă instanţă rezultanta proceselor declanşate de mediatorii eliberaţi de celulele activate imunologic.

În ansamblu, mediatorii farmacologici implicaţi în procesele imunologice sînt de două tipuri : (*a*) mediatori antigen-specifici (anticorpii, receptorii limfocitari pentru antigene şi limfokinele antigen-specifice, inclusiv factorul de transfer) ; (*b*) mediatori antigen-nespecifici (limfokine antigen-nespecifice, substanţele de tipul histaminei, interferonul, lizozimul, complementul).

Principalele tipuri de răspuns imun pot fi grupate în două mari categorii : cele mediate prin anticorpi şi cele mediate prin celule, fără intervenţia anticorpilor. Această grupare are desigur o valoare didactică şi de studiu importantă ; ea nu corespunde însă decît în mai mică măsură realităţii, deoarece practic nu există într-un organism o stare de imunitate mediată strict fie prin anticorpi, fie prin celule, ci o intricare a celor două forme, cu dominanţa uneia din ele. Devine astfel uşor de distins, în cadrul celor două categorii mari de răspuns imun, existenţa unor entităţi separate. În acest sens, în acest capitol vor fi descrise următoarele tipuri de răspuns imun :

A. Răspunsul imun mediat prin anticorpi.
B. Hipersensibilitatea mediată prin anticorpi.
C. Răspunsul imun mediat prin celule.
D. Hipersensibilitatea întîrziată.
E. Răspunsul imun în bolile infecţioase şi parazitoze.
F. Răspunsul imun în transplantare.
G. Răspunsul imun în procesele de malignizare.
H. Toleranţa imunologică.

A. *Răspunsul imun mediat prin anticorpi*

Reacţiile de combinare între anticorpi şi antigenele corespunzătoare constituie substratul unor foarte numeroase forme de răspuns imun. Diversitatea acestor forme este generată de anumite aspecte particulare pe care le pot prezenta cei doi parteneri principali ce concură la reacţie. Astfel, anticorpii pot prezenta localizări diferite (circulanţi, legaţi pe membrana

limfocitului B ori pe suprafaţa altor celule: eozinofil, mastocit, macrofag etc.) sau efecte biologice diferite (anticorpi precipitanţi, citofili, fixatori de complement etc.), dependente de clasa, subclasa sau aviditatea pentru antigen a moleculei de Ig-anticorp. Antigenele, de asemenea, pot prezenta caracteristici variate fie de structură (haptenă sau antigen complet, molecule cu determinanţi puţini sau foarte numeroşi etc.), fie de reactivitate biologică (antigene timus-dependente sau timus-independente etc.). Întrucît antigenele şi haptenele diferă între ele prin capacitatea imunogenă (stimularea producerii anticorpilor), dar se aseamănă în privinţa abilităţii de a se combina cu anticorpii, s-a creat termenul de *ligand*, care este folosit pentru a desemna capacitatea unei substanţe de a reacţiona cu anticorpii, independent de potenţialul său imunogen.

Reacţiile dintre ligand[30] şi anticorp sînt caracterizate prin specificitatea lor. Specificitatea anticorpilor pentru un anumit antigen prezintă însă direcţii variate şi, mai ales, *afinităţi* diferite, în funcţie de determinantul antigenic de pe molecula de ligand faţă de care anticorpul prezintă specificitate. Cu alte cuvinte, *specificitatea* unui anticorp este definită de capacitatea sa de a discrimina determinanţi antigenici cu structuri similare dar diferite, prin legarea lor cu afinităţi diferite.

Reacţia dintre anticorp şi ligand este generată de complementaritatea structurală dintre situsul de combinare al anticorpului şi determinantul antigenic al ligandului. Forţele ce realizează legarea sînt de acelaşi tip cu cele implicate în interacţiunile dintre proteine sau dintre o enzimă şi substrat: ele sînt de natură termodinamică, necovalente şi dependente de complementaritatea sterică dintre parteneri. Aceste forţe de legare includ forţele Van der Waals, forţele electrostatice, punţile de hidrogen şi legăturile hidrofobe dintre grupări nepolare.

Reacţiile dintre anticorpi şi liganzi au fost analizate printr-un larg evantai de metode, *in vitro* şi *in vivo*, dintre care unele pun în evidenţă existenţa anticorpilor („metode primare", după Bach) şi posibilitatea lor de a declanşa fenomene de răspuns imun de un anumit tip („metode secundare"), iar altele evidenţiază direct, *in vivo*, tipul de răspuns imun pe care îl produc („metode terţiare").

Metodele de evidenţiere şi cantificare a anticorpilor cuprind: precipitarea complexelor imune (sulfat de amoniu, polietilenglicol, ser anti-Ig), măsurători fluorometrice, dializă de echilibru, ultracentrifugare, gel filtrare, electroforeză, radiomarcare etc. Precipitarea, cu diferitele sale variante (în lichide, în geluri, sub acţiunea cîmpului electric, aglutinarea, floculare), ca şi testele de neutralizare (în cazul toxinelor, bacteriofagilor, virusurilor, enzimelor) şi reacţiile dependente de complement (citoliză, fagocitoză, chemotaxie), sînt metode *in vitro* care evidenţiază nu numai reacţiile dintre anticorpi şi antigen, dar dau şi indicaţii despre tipul de răspuns imun la care participă anticorpii determinaţi.

Reacţiile *in vivo*, de tipul hemolizei intravasculare, şocului anafilactic şi fenomenului Arthus sînt exemple de metode care pot evidenţia nemij-

---

[30] Liganzi de tipul antigenelor, haptenelor sau anticorpilor specifici au fost utilizaţi pentru separarea limfocitelor antigen-specifice. Gheţie şi Sjöquist (1975) au pus la punct o metodă prin care separarea limfocitelor se face prin aderenţă specifică, folosind ca imunoadsorbant monostraturi de hematii învelite în proteină A stafilococică (Gheţie, 1977).

locit tipul de răspuns imun declanşat de reacţia dintre antigen şi respectivul anticorp.

Reacţiile de răspuns imun mediate prin anticorpi sînt coordonate fie direct de limfocitul B, în cazul antigenelor policlonale timus-independente (v. cap. II, B), fie prin cooperare între limfocitele B şi T, cu participarea macrofagelor, în cazul antigenelor timus-dependente.

Interacţiunile celulare B — T — M în cazul răspunsului imun mediat prin anticorpi sînt esenţiale pentru stimularea şi sensibilizarea limfocitului B.

Macrofagele recunosc antigenele, le endocitează şi le modifică prin digestie enzimatică. Acţiunea lor nu se rezumă însă la procesionarea antigenului, ci participă activ la stimularea celulei B, cu care stabileşte contacte strînse; deficitul în macrofage afectează negativ stimularea limfocitului B de către antigen şi transformarea sa în celulă producătoare de anticorpi.

Macrofagele şi limfocitele T sînt ambele necesare pentru producerea de către celulelor B a anticorpilor specifici pentru antigene timus-dependente (bacterii, hematii de oaie, proteine solubile etc.). Cu cît un antigen are un caracter de „timus-dependenţă" mai accentuat, cu atît el este preluat şi degradat mai eficient de către macrofage. Acest fenomen este corelabil cu cooperarea celulară între limfocitele B şi T, în prezenţa macrofagelor (Feldmann şi Basten, 1972), proces în care celulele T eliberează factori specifici care activează macrofagele, determinîndu-le să prezinte limfocitului B antigenul stimulator. Macrofagele prezintă de asemenea antigenul celulelor T, stimulîndu-le pentru cooperare, aşa cum rezultă din faptul că celula T răspunde anamnestic la antigen numai cînd acesta îi este prezentat de acele macrofage care au determinanţi MHC identici (limfocitul T recunoaşte antigenul numai împreună cu determinanţii Ia, care sînt prezenţi pe suprafaţa macrofagului) (v. cap. I, E şi II, A). Antigenul procesionat, sau altfel spus structurile din molecula antigenului care posedă determinanţii antigenici, sînt păstrate de macrofag pe membrana de suprafaţă, împreună cu determinanţii Ia proprii. Aceste două tipuri de determinanţi sînt capabile să stimuleze limfocitul T pentru cooperare, aşa cum rezultă din faptul că supunerea macrofagului la acţiunea tripsinei îndepărtează structurile de suprafaţă şi, concomitent, lipsesc macrofagul de capacitatea stimulatorie pentru limfocit (v. cap. II, C).

În plus, cum macrofagul deţine receptori pentru fragmentul Fc al moleculei de IgG, el poate fixa complexele antigen—anticorp înainte de a veni în contact cu limfocitele. Prin activare, macrofagul eliberează factori solubili, care pot contribui la iniţierea răspunsului imun (v. cap. II, C).

Cooperarea T—B în vederea stimulării limfocitului B pentru a sintetiza anticorpi a fost sugerată iniţial de observaţia că animalele timectomizate la naştere sau iradiate şi reconstituite numai cu celule de măduvă osoasă (Claman şi colab., 1966), nu mai erau capabile să producă anticorpi faţă de antigene timus-dependente.

Limfocitul T contribuie la procesul de cooperare pe două căi: (*a*) răspunde specific la partea din molecula antigenică ce „poartă" haptena; şi (*b*) ajută celula B să producă anticorpi antihaptenă (Mitchison, 1971). Aceste concluzii au fost confirmate prin experienţe de transfer în care materialul transferat a fost preparat cu ser imun anti-theta pentru distrugerea selectivă a limfocitelor sensibilizate faţă de „purtător" (limfocite T),

constatîndu-se că organismul receptor al transferului nu mai era capabil să răspundă prin producere de anticorpi specifici, în pofida faptului că deținea limfocite B sensibilizate la antigenul respectiv.

Limfocitul T prezintă celulei B partea haptenică (determinantul antigenic) din molecula de imunogen, așa cum rezultă din faptul că, blocarea în prealabil cu haptene a receptorilor respectivi de pe celula B, o împiedică pe aceasta din urmă să mai fie stimulată pentru a produce anticorpi cînd este pusă în contact cu limfocite T purtătoare de antigen complet.

Datorită faptului că limfocitul T prezintă specificitate pentru partea „purtătoare" a imunogenului și limfocitul B pentru haptene, este posibil ca un limfocit T, avînd fixat un singur antigen, să stimuleze mai multe limfocite B care, fiecare, să producă anticorpi pentru o altă haptenă a imunogenului. Singura condiție și în acest caz este ca atît limfocitul B, cît și cel T să prezinte receptori pentru antigen cu aceleași idiotipuri, iar celula T să realizeze recunoașterea simultană a imunogenului și a antigenelor Ia (produse ale MHC) de pe suprafața limfocitului B cooperant (v. cap. II, C).

Capacitatea limfocitului T de a stimula producerea de anticorpi de către celula B poate fi amplificată prin transferul de celule alogene. Procesul este cunoscut sub denumirea de *efect alogenic* și a fost evidențiat în cazul răspunsului anamnestic la o aceeași haptenă cuplată cu „purtători" diferiți. Astfel, dacă unui organism i se administrează celule alogene normale, el va putea răspunde mai rapid și mai intens prin anticorpi antihaptenă ca urmare a unui stimul cu un nou antigen, în care haptena este aceeași dar purtătorul diferă. Reacția de grefă contra gazdă declanșată de celulele alogenice transferate pare să stimuleze global limfocitele, amplificîndu-le memoria imunologică și mărind afinitatea pentru haptenă a anticorpilor produși. Celulele T activate prin această reacție grefă contra gazdă par să realizeze o stimulare a funcției anti-purtător și efectului ajutător direct față de limfocitul B.

În cursul procesului de cooperare T—B, limfocitul T eliberează mediatori solubili, care acționează local sau la distanță. În culturi *in vitro*, au fost identificați o serie de factori (specfic sau nespecifici pentru antigen) care sînt secretați de limfocitul T ajuitător activat și care modulează răspunsul limfocitului B.

Un astfel de mediator este *factorul efectului alogenic*, nespecific la antigen, și care leagă determinanții Ia de pe suprafața celulei B. Acest factor este eliberat de limfocite T ca urmare a stimulării lor cu celule alogene (Amerding și Katz, 1974), în prezența macrofagelor.

Un al doilea mediator identifict este *gangliozidul G-M1*, de asemenea nespecific pentru antigen, și cara leagă determinanții locusului *Thy-1* pe suprafața lor externă. În cantităe mici și repetate, stimulează producerea de anticorpi de către limfocitți B, iar în cantități mari protejează celula B de suprasolicitarea antigeulcă (Ranney, 1977).

Din celule T splenice educate de polipeptidul (T, G)-Ala-Lys, Taussig și Munro (1976) au izolat un factor antigen-specific, cu G.M. = 50 000 daltoni, capabil să fixeze *in vitro* antigenul. Factorul nu reacționează cu anticorpi anti-Ig, dar poate lega antigene Ia de pe celula B. Această interacțiune cu receptorii Ia de pe celula B nu apare ca limitată de o identitate totală între structurile MHC ale celulelor B și T ce intră în reacție.

◆

Răspunsul imun mediat prin anticorpi prezintă unele caracteristic diferenţiatoare, în funcţie de numărul contactelor pe care un organism le are cu un acelaşi imunogen.

Pătrunderea în organism pentru prima oară a unui antigen duce la apariţia de anticorpi specifici în circulaţie *(răspuns imun primar)* după o perioadă de latenţă de mai multe zile, cînd titrul anticorpilor rămîne relativ mic. După un al doilea contact cu acelaşi antigen, organismul reacţionează mult mai rapid prin producere de anticorpi *(răspuns imun secundar)*, datorită prezenţei în organism a *limfocitelor de memorie*.

Perioada de latenţă în cadrul răspunsului primar variază după natura antigenului : ea este de 20 ore pentru bacteriofagul Φ *X* 174, de 3—4 zile pentru eritrocite de oaie, de 5—7 zile pentru antigene proteice solubile şi de peste 3 săptămîni pentru anatoxina difterică. Dozele mai mari de antigen, ca şi utilizarea de adjuvanţi imunologici pot scurta perioada de latenţă. Aceasta este urmată de o creştere exponenţială a concentraţiei serice de anticorpi, care şi ea are o durată variabilă în funcţie de natura antigenului : 4—5 zile pentru eritrocite eterologe, 9—10 zile pentru antigenele proteice solubile şi pînă la trei luni pentru anatoxina difterică. Concentraţia de anticorpi în ser rămîne maximă cîteva zile după faza de creştere şi apoi începe să scadă, ca urmare a catabolizării moleculelor de Ig. Această catabolizare este mai rapidă sau mai lentă, în funcţie de clasa de Ig căreia îi aparţine anticorpul şi de concentraţia sa în ser (v. cap. II, E) : degradarea zilnică a IgA este de circa 25 %, a IgM de 18 % şi a IgG de 7 %.

Răspunsul secundar se caracterizează printr-o fază de latenţă foarte redusă, prin producerea unui titru înalt de anticorpi şi prin dominanţa anticorpilor IgG cu înaltă afinitate. De remarcat că antigenele timus-independente (stimulatori policlonali) (v. cap. II, D) nu sînt capabile să producă răspuns secundar. Aceste antigene ce pot acţiona direct pe celula B induc de altfel producerea de anticorpi IgM.

În cadrul răspunsului primar, majoritatea antigenelor stimulează iniţial producerea de anticorpi IgM (19 S), care ulterior sînt ,,înlocuiţi'' cu anticorpi IgG (7 S). Această ,,înlocuire'' este rezultatul unei sinteze mai abundente de anticorpi IgG, după primele zile de apariţie a anticorpilor în ser (de altfel, la exprimarea acestui fenomen contribuie, în faza iniţială, şi calitatea tehnicilor de dozare, care pun mai uşor în evidenţă anticorpii IgM din cauza avidităţii lor crescute pentru antigen). Producţia de anticorpi IgG, spre exemplu faţă de eritrocite eterologe, începe încă din zilele 2 sau 3 de la administrarea antigenului, şi aceşti anticorpi devin prevalenţi în ser în zilele 5—8 datorită opririi sintezei de IgM. La procesul de blocare a sintezei anticorpilor IgM contribuie în primul rînd înseşi anticorpii IgG, printr-un mecanism de feedback. Un astfel de proces de suprimare a producerii anticorpilor IgM prin prezenţa de anticorpi IgG a fost demonstrat experimental prin transferul de anticorpi antieritrocitari la şoarece după 5 zile de la administrarea de eritrocite ; transferul de anticorpi a dus la blocarea sintezei de anticorpi specifici în organismul inoculat. Blocajul este strict specific pentru anticorpii transferaţi ; astfel, transferul de anticorpi anti-O la un animal inoculat cu bacili proteus (care induc sinteza de anticorpi anti-O şi anti-H) blochează numai sinteza anticorpilor anti-O. Efect blocant au numai fragmentele Fab din molecula de Ig-anticorp, fragmentele Fc fiind lipsite de o asemenea activitate ; ceea ce demonstrează că

inhibiţia sintezei este rezultatul intervenţiei situsurilor de combinare ale anticorpilor existenţi.

Implicarea mecanismelor de feedback anticorpic în *reglarea producerii de anticorpi* (Păunescu şi colab., 1977) trebuie diferenţiată de acţiunea imunosupresivă ipotetică a anticorpilor idiotipici, ca şi de cea real blocantă exercitată de celulele T supresoare.

Fenomenul de reglare a sintezei anticorpilor prin anticorpii liberi existenţi nu afectează funcţionalitatea celulelor de memorie. Animalele sensibilizate cărora li se administrează anticorpi cu cîteva zile înainte de a primi o nouă inoculare cu antigen, dezvoltă un răspuns imun secundar nealterat.

Fenomenul de memorie imunologică reprezintă capacitatea unui organism sau a unor celule de a răspunde rapid la un antigen cu care au mai venit în contact. Memoria imunologică persistă timp îndelungat, mulţi ani şi chiar toată viaţa, indiferent dacă în ser concentraţia anticorpilor este foarte scăzută sau chiar nulă. Doza primară de antigen, necesară pentru producerea memoriei imunologice, este mai mică decît cea necesară inducerii sintezei de anticorpi.

Memoria imunologică este specifică. Ea este purtată atît de limfocite B cît şi de cele T, celula B purtînd memoria pentru determinanţii haptenici, iar celula T pentru determinanţii purtătorului. Şi din această dualitate a specificităţii de memorie rezultă că, pentru a se declanşa un răspuns imun secundar, este nevoie ca : (*a*) antigenul să fie „complet", adică să conţină atît haptena cît şi purtătorul ; (*b*) organismul să pună în funcţie atît celule B, cît şi T de memorie (Mitchison, 1971).

B. *Hipersensibilitatea mediată prin anticorpi*

În funcţie de caracteristicile efectorului biologic al moleculelor de diverse clase şi subclase de Ig (izotipuri), anticorpii pot declanşa variate procese morbide evidenţiabile (definite ca „hipersensibilitate"). Ele au fost grupate de Gell şi Coombs în trei categorii distincte :

a) *Reacţii de tip I*, care cuprind interacţiunile dintre antigen (alergen) şi anticorpii IgE, fixaţi pe suprafaţa bazofilelor şi mastocitelor la nivelul receptorului pentru fragmentul Fc de IgE aflat pe membrana de suprafaţă a acestor celule. În aceste condiţii are loc degranularea bazofilelor (mastocitelor) şi liberarea de mediatori care declanşează mecanismele, localizate sau sistemice, de *anafilaxie (hipersensibilitate imediată)* sau alte forme de alergie (atopie), incluzînd febra de fîn, astmul şi urticaria.

b) *Reacţii de tip II*, care cuprind reacţiile citolitice mediate de anticorpi care se fixează pe celulă şi reacţionează, în prezenţa antigenului şi a complementului, prin eliberarea de anafilatoxine. Asemenea reacţii stau la baza aloimunizării eritrocitare observată în transfuziile de sînge incompatibil sau în boala hemolitică a noului născut. O serie de medicamente pot de asemenea declanşa producerea de anticorpi fixatori pe hematii sau plachetele sanguine, provocînd „sensibilitate anticorpică la

medicament". În același grup de reacții sînt incluse și efectele posibile ale anticorpilor numiți „limfocito-dependenți", care — prin intermediul acțiunii celulelor K — realizează citoliza celulelor țintă învelite cu IgG (de subliniat însă că asemenea procese nu au putut fi demonstrate în imunopatologia umană).

c) *Reacții de tip III*, care cuprind reacțiile tisulare declanșate de complexe antigen—anticorp precipitabile, al cărui prototip îl constituie fenomenul Arthus. Cea mai cunoscută manifestare clinică umană a acestor reacții este pneumonia interstițială observată la fermieri și crescătorii de porumbei, ca urmare a inhalării de antigene caracteristice (de actinomicete și, respectiv, aviare).

1. *Reacții anafilactice*

Inocularea de foarte mici cantități (10^{-4} ml) de ser de cal la un cobai provoacă o sensibilizare generală a animalului; astfel că — după a doua inoculare a antigenului, la 15 zile interval — se declanșează *în cîteva minute* o intensă reacție de șoc anafilactic, incluzînd o dispnee puternică provocată de contracții masive ale mușchilor bronhiolari, cu sufocare și moarte. Reacția anafilactică de *hipersensibilitate imediată* se poate manifesta diferit, în funcție de specia animală: șoarecele, spre exemplu, este destul de rezistent la șoc, neevidențiind manifestări puternice; cîinele însă (animal folosit de Richet și Portier în studiile inițiale de anafilaxie) manifestă vasodilatare periferică masivă, urmată de colaps vascular; la om, șocul anafilactic se manifestă prin stress dispneic și colaps vascular.

Rolul anticorpilor circulanți în anafilaxie a fost demonstrat de Prausnitz, în 1921, care și-a inoculat intracutan, în același loc, ser provenind de la o persoană (Küstner) sensibilă la pește și antigene extrase din pește; la locul inoculării a apărut un eritem. Acest proces de „anafilaxie cutanată pasivă" poate fi evidențiat, la animalul de laborator, prin inocularea intradermică de ser (eventual mult diluat) de la un bolnav cu stare atopică, urmată de inocularea intradermică, după 24—72 de ore, de un amestec din antigenul (alergenul) corespunzător împreună cu albastru Evans. La locul de inoculare a serului de testat va apare culoarea albastră a colorantului (Păunescu, 1968). Extravazarea colorantului poate fi măsurată, ca și diluția de ser administrată.

Tipul de anticorpi implicați în anafilaxie a fost identificat abia în 1967, cînd Johansson a descris primul mielom IgE, iar Ishizaka a izolat moleculele de IgE și le-a studiat proprietățile fizico-chimice și biologice (v. cap. II, E). Caracteristica biologică esențială a moleculelor de IgE constă în faptul că, după inoculare la piele, se fixează pe mastocitele locale, unde pot fi identificate timp de multe zile și chiar săptămîni. Fixarea se face cu fragmentul Fc, în timp ce extremitatea liberă Fab deține rol de situs de combinare cu antigenul.

Mastocitul, ca și bazofilul (cealaltă celulă efectoare în hipersensibilitatea imediată)[31], conțin în citoplasmă numeroase granule osmiofile, care se colorează metacromatic (albastru de toluidină) și care conțin his-

[31] I se acordă și eozinofilului polimorfonuclear un rol similar de celulă efectoare în hipersensibilitatea imediată, însă pînă în prezent nu s-au putut aduce dovezi directe în susținerea acestei ipoteze.

tamină şi alte substanţe cu proprietăţi similare. Bazofilul şi mastocitul conţin pe suprafaţa membranei lor receptori pentru fragmentul Fc al IgE.

Legarea antigenului de segmentul Fab al unei molecule de IgE fixată pe mastocit (bazofil) provoacă în numai cîteva secunde degranuparea celulei şi eliberarea mediatorilor : histamină, serotonină, substanţa lent reactivă, factorul chemotactic pentru eozinofile şi fctorul activant al plachetelor sanguine.

Degranularea şi liberarea mediatorilor este un fenomen activ, care implică sistemul adenozin-guanozin monofosfaţilor ciclici (cAMP—cGMP) şi prezenţa ionilor de calciu şi glucozei, la 37°C. Într-o etapă iniţială, o esterază serinică de membrană este activată de prezenţa ionilor de calciu ; intervine apoi o etapă energetică, care necesită glucoză (şi este inhibată de dezoxiglucoză), şi abia apoi intervine sistemul cAMP—cGMP, calciu-dependent. Această ultimă fază are loc în sens invers faţă de cea care intervine în sistemele secretorii : în timp ce liberarea mediatorilor sub influenţa IgE are loc ca urmare a scăderii nivelului de cAMP, procesele secretorii se însoţesc de creşterea nivelului cAMP. Pe măsură ce histamina şi alte substanţe de tip histaminic sînt eliberate, se iniţiază un proces de inhibiţie a reducerii nivelului de cAMP şi, astfel, o blocare (parţială) a liberării altor mediatori farmacodinamici de tip histaminic.

Anticorpii IgE sînt efectori reaginici în toate speciile animale experimentate (om, maimuţă, cîine, iepure, cobai, şobolan, şoarece). La cobai însă, s-au descris ca anticorpi reaginici şi molecule de IgG1. Principalele deosebiri între anafilaxia prin IgE şi cea prin IgG1 rezultă din faptul că IgE se fixează lent (24—72 de ore) pe mastocit, unde apoi persistă multe zile, în timp ce IgG1 se fixează rapid pe mastocit, dar nu persistă decît 24—36 de ore. Rezultă că, în urma transferului pasiv de anticorpi reaginici circulanţi, antigenul poate declanşa rapid o anafilaxie locală de scurtă durată dacă anticorpii sînt IgG1, sau începînd cu 72 ore de la administrarea serului şi pe o perioadă de multe zile, dacă anticorpii sînt de tip IgE.

Mai mulţi autori au descris hipersensibilitate mediată prin anticorpi IgG şi la om, demonstrînd existenţa în serul acestor indivizi a unor molecule de IgG care aveau proprietăţi citofile pentru bazofile (Weir, 1973). Asemenea anticorpi nu par însă să deţină în hipersensibilitatea de tip anafilactic un rol atît de universal şi important biologic ca moleculele de IgE (Bach, 1978).

Concentraţiile serice foarte scăzute ale IgE (0,1—1 μg/ml) indică rolul dominant al acestor anticorpi la nivelul ţesuturilor şi nu în circulaţie. De asemenea, prezenţa IgE în sînge nu semnifică neapărat implicarea lor într-un proces de tip anafilactic, ceea ce ne obligă să păstrăm anumite rezerve în interpretarea unor nivele serice crescute ale IgE.

În ultimii ani, determinarea nivelului seric al IgE a devenit un test frecvent la bolnavii cu hipersensibilitate atopică. Trebuie însă subliniat că un asemenea test nu aduce informaţii superioare probei de provocare *in vivo*, testul Ovary de anafilaxie cutanată pasivă (Păunescu, 1968, 1975). În unele cazuri au fost identificaţi anticorpi IgE circulanţi specifici pentru un anumit antigen, fără ca pacientul să manifeste hipersensibilitate imediată faţă de acel antigen şi fără ca respectivul antigen să poată induce degranularea bazofilelor pacientului (Brent şi Holborow, 1974).

Dintre antigenele (*„alergenele”*) *capabile să dezvolte și să declanșeze hipersensibilitate imediată* la om, trebuie amintite cele inhalabile (polen, gunoi de grajd, păr de animale, praf de casă) și cele ingerabile (derivate de lapte, ouă, pește etc. și relativ numeroase produse farmaceutice ca penicilina, cloramfenicolul, streptomicina, tetraciclinele, sulfonamidele, aspirina, alopurinolul). Există alergene patogene numai pentru unele specii. Însă, ceea ce trebuie subliniat în mod particular, este eterogenitatea foarte mare a sensibilității la alergene printre indivizii din cadrul aceleiași specii. Este bine precizat în prezent că, dintre mai mulți indivizi supuși în condiții identice unui același alergen (polen, gunoi de grajd, medicamente), numai unii se sensibilizează. Spre exemplu, hipersensibilitatea la penicilină apare cu o frecvență foarte mică, de 10^{-5}—10^{-6}. Nu se cunosc încă factorii care contribuie la aceste variații atît între specii cît și, mai ales, între indivizi, și nici cunoștințele despre structura antigenelor alergizante nu sînt suficient de ample. Există însă un număr mare de argumente care pledează pentru implicarea unui factor de „teren”, individualizat, cel puțin în cazul sensibilizării anafilactice la om.

2. *Reacții citotoxice anticorp-dependente*

Așa-numitele „reacții de tip II” după clasificarea lui Gell și Coombs, reacțiile citotoxice induse de anticorpi în prezența complementului, sînt mediate de anticorpi specifici față de determinanți antigenici sau haptene legate de suprafața unor celule. Acești anticorpi aparțin claselor IgG sau IgM și sînt fixatori de complement, proces care constituie mecanismul efector pentru leziunile citotoxice (v. cap. II, E).

În acest grup de reacții sînt cuprinse toate procesele de *citoliză imună prin fixare de complement*, și anume :

a) procesele de citoliză imună evidențiate ca factori patogeni ai unor manifestări imunopatologice : sindromul de hemoliză post-transfuzională (după administrare de eritrocite incompatibile), sindromul hemolitic al nou născutului (rezultat al incompatibilității Rh între mamă și făt), sindromul nefritic Masugi, rejecția hiperacută de alogrefă, orhita experimentală autoimună ;

b) citoliza celulelor învelite cu un antigen și puse în prezență de anticorpi specifici și fixatori de complement ; un caz particular din această categorie de procese îl constituie anumite forme de alergie la medicamente : spre exemplu, chinina, chinidina, sedormidul etc. pot dezvolta apariția de anticorpi specifici și fixatori de complement, care — la rîndul lor — pot declanșa citoliza hematiilor sau leucocitelor pe care se leagă aceste medicamente ;

c) bacterioliza prin anticorpi specifici și fixatori de complement.

Printre reacțiile citotoxice anticorp-dependente sînt incluse și alte fenomene, cu mecanisme de producere mai deosebite, și anume :

1) Transformarea blastică a limfocitelor B, ca urmare a interacțiunii cu un ser imun anti-imunoglobulinic, și transformarea blastică a limfocitelor T ca urmare a interacțiunii cu un ser imun antilimfocitar. Aceste procese nu necesită obligator prezența complementului, iar atunci cînd acesta este prezent poate avea loc *in vitro* citoliza limfocitelor.

2) Distrugerea celulelor ţintă, învelite cu anticorpi specifici de către *mononucleare* provenite de la organisme normale (*celule K*); procesul are loc în absenţa complementului şi este cunoscut sub denumirea de „*citotoxicitate mediată celular anticorp-dependentă*". Trebuie subliniat că celulele K, care sînt efectoare în acest fenomen, nu manifestă nici o sensibilitate particulară faţă de anticorpul care înveleşte celula ţintă şi s-a demonstrat că organismul de la care provin celulele K nu venisera niciodată în contact cu celulele ţintă sau cu anticorpii corespunzători. Astfel, anumite celule mononucleare umane au fost constatate ca fiind capabile să lizeze eritrocite de pasăre învelite cu anticorpi anti-eritrocitari specifici; de asemenea, mononucleare umane normale, puse în contact în absenţa complementului cu celule tumorale hepatice Chang, învelite cu anticorpi anti-Chang, pot distruge celulele Chang, liberînd ^{51}Cr, cu care fuseseră marcate (Holm şi Perlmann, 1969).

Activitatea citotoxică anticorp-dependentă a celulelor K este implicată nu numai în imunitatea tumorală, ci şi în cea de transplantare: celule ţintă învelite în anticorpi anti-HLA[32)] sînt lizate de celule K de la indivizi normali.

Celulele K nu par să aibe o natură limfocitară, aşa cum rezultă din faptul că ele sînt prezente atît la organisme atimice (şoareci timectomizaţi, şoareci „nude", copii cu aplazie timică), cît şi la organisme cu agammaglobulinemie şi absenţa celulelor B. De asemenea, eliminarea din sîngele circulant sau din omogenatele splenice a limfocitelor B (prin rozetare sau prin acţiunea serului antiimunoglobulinic), a macrofagelor (prin filtrare pe nylon) sau a limfocitelor T (prin rozetare cu hematii de oaie sau prin tratament cu ser imun anti-theta) nu afectează activitatea celulelor K. Ele sînt prezente într-un procent important în sînge şi splină, sînt rare în ganglionii limfatici şi sînt absente în timus. Despre natura celulelor K se cunoaşte numai faptul că au structura mononuclearelor; ele sînt considerate fie ca o nouă populaţie de limfocite (în afara celulelor T şi B), fie limfocite B sau monocite atipice şi imature (Greenberg şi Wolosin, 1977).

Ca şi monocitele şi limfocitele B, celulele K posedă receptori pentru fragmentul Fc al IgG şi aceşti receptori realizează legarea celulelor K la complexul anticorp—antigen (respectiv anticorp—celulă ţintă), proces care nu implică însă şi fixarea şi activarea complementului.

În fenomenele de citoliză prin anticorpi, fixarea şi activarea complementului este obligatorie, componentele eliberate de complement în cursul activării acestuia deţinînd rolul efector: procesul de alterare a membranei celulei ţintă necesită prezenţa la suprafaţa acesteia a ultimelor cinci componente ale complementului activat (C5—C9). În plus, prin activarea complementului rezultă şi alte componente cu proprietăţi biologice speciale, cum sînt *anafilatoxinele* C3a şi C5a (v. cap. II, F). Ambele anafilatoxine, cînd sînt puse în contact cu mastocite şi/sau bazofile, induc punerea în libertate a histaminei, care declanşează — local — reacţie eritematoasă, iar general, şoc letal („şoc anafilatoxinic"). Rezultă astfel

[32)] Anticorpii anti-HLA se pot obţine de la femei multipare, de la persoane ce au primit transfuzii sau de la purtătorii de grefă renală.

că procesele de citotoxicitate anticorp-dependente se pot însoţi adesea şi de fenomene care simulează hipersensibilitatea imediată, de tip anafilactic, induse prin componentele anafilatoxinice ale complementului.

3. *Reacţii de tip Arthus*

Fenomenul Arthus, care este caracteristic pentru „reacţiile de tip III" după clasificarea Gell—Coombs, corespunde proceselor de necroză tisulară la locul administrării antigenului la un organism sensibilizat; ele sînt rezultatul eliminării enzimelor lizosomale de către polimorfonuclearele atrase şi activate la locul respectiv, prin complexele antigen — anticorp formate în prezenţa complementului. După perioada de timp necesară pentru apariţia reacţiei ca urmare a administrării antigenului, reacţiile de tip Arthus sînt considerate „semiîntîrziate", deoarece apar la 4—6 ore de la administrarea antigenului şi se amplifică pînă la 24 de ore; ele sînt însă mediate de complexe antigen — anticorp.

În cazul fenomenului Arthus, reacţia constă din precipitarea antigenului inoculat intradermic, ca urmare a formării de complexe imune cu anticorpii specifici prezenţi în circulaţie; precipitatele imune se depun pe pereţii vaselor mici, subcutanate, ceea ce declanşează rapid un edem al pereţilor, interesînd cu precădere celulele endoteliului vascular. Procesul se amplifică şi duce la acumularea de trombocite, care declanşează *coagulare sanguină intravasculară*, ca urmare a eliberării de tromboplastină şi a transformării fibrinogenului în fibrină. Depunerea acesteia din urmă, sub formă de flocoane insolubile, pe pereţii vaselor, şi formarea de trombuşi, înseamnă amplificarea procesului ca urmare a reţinerii unui număr încă mai mare de plachete sanguine. La amplificarea coagulării contribuie şi complexul C 6,7,8 liberat prin activarea complementului. Accentuarea dimensiunii trombusurilor intravasculare se însoţeşte de oprirea în circulaţie a polinuclearelor, care migrează în ţesutul înconjurător, realizînd o induraţie dermică prin infiltraţie leucocitară, predominant polimorfonucleară. Ca urmare a leziunilor arteriolare şi ale venulelor, se ajunge la tromboză locală, care provoacă fenomene hemoragice, caracteristice reacţiei. Totodată, prin amplificarea masivă a proceselor locale şi prin fagocitarea intensă a complexelor antigen—anticorp de către p omorfonucleare, structurile lizosomale ale leucocitelor acumulate sînt activate, hidrolazele sînt extracelularizate şi apare necroza locală (Păunescu, 1972).

Fenomenele de tip Arthus încep deci printr-un proces imunologic specific, declanşarea leziunii vasculare fiind rezultatul constituirii precipitatelor intravasculare de complexe antigen—anticorp; ulterior, însă, fenomenul capătă un caracter nespecific, de tip inflamator (Păunescu, 1975).

Ca şi în cazul hipersensibilităţii de tip anafilactic, în sensibilitatea de tip Arthus se poate realiza transferul pasiv prin anticorpi:

a) fie prin administrarea intravenoasă a serului de la donator şi practicarea injecţiei declanşatoare, cu antigen, pe cale intradermică *(fenomen Arthus direct)*;

b) fie prin inocularea intravenoasă a antigenului și administrarea locală, intradermică, a serului imun *(fenomen Arthus inversat)* (Păunescu, 1975).

Reacții de tip Arthus, avînd ca substrat complexe antigen—anticorp cu participarea complementului, pot avea loc în diferite organe și țesuturi, ele constituind mecanismul de bază în multe afecțiuni imunopatologice, cum sînt : boala serului, glomerulonefrita acută, lupusul eritematos sistemic, unele alergii medicamentoase, pneumonia interstițială a crescătorilor de păsări și fermierilor.

Cu toate că reacțiile de tip Arthus sînt reacții de hipersensibilitate mediată prin anticorpi, fiind net deosebite de reacțiile de hipersensibilitate celulară, mediate prin limfocite T (Păunescu, 1975), ele sînt uneori confundabile cu reacțiile de hipersensibilitate imediată propriu-zise, în particular cu anafilaxia pasivă locală. Spre deosebire de aceasta din urmă, reacțiile de tip Arthus nu necesită anticorpi citofili, dar se desfășoară în prezența complementului (tabelul nr. 9). Reacția anafilactică pasivă necesită o perioadă de latență (pentru realizarea fixării anticorpilor în țesuturi) între administrarea anticorpului și cea a antigenului, dar după ce acesta din urmă a fost introdus, reacția se declanșează imediat ; în fenomenul Arthus inversat, nu este nevoie de perioadă de latență, însă după administrarea locală a antigenului reacția devine evidentă numai după cîteva ore.

Tabelul nr. 9

Comparație între anafilaxia pasivă locală și fenomenul Arthus după transfer pasiv

Caracterul	Anafilaxie cutanată pasivă	Fenomen Arthus inversat
Doza-prag de anticorpi necesară transferului	0,003 µg N	10 µ g N
Tipul de anticorpi	IgE (citofili)	IgG, IgM (necitofili)
Implicarea complementului	nu	da
Perioada de timp între administrarea anticorpilor și cea a antigenului	2—4 zile	cîteva minute
Timpul necesar declanșării reacției (după administrarea antigenului)	2—20 min	1—6 ore
Aspectul macroscopic al reacției	eritem, edem	necroză hemoragică
Substanțe inhibitorii ale reacției	antihistaminice	anticoagulante
Tipul de antigen inductor	determinanți de talie mică (nucleu benzenic, hexapeptide, hexazaharide)	macromolecule (proteine, beterminanți de pe membrana de suprafață)
Mecanismul de producere	anticorpii fixați pe celule reacționează cu antigenul și eliberează histamine	anticorpii liberi în circulație dau complexe cu antigenul (și C') și provoacă coagulare

De asemenea, în reacţia de tip Arthus şocul declanşabil nu se aseamănă cu cel anafilactic, ci este hipotensiv, leucopeniant, trombocitopenic şi duce la anomalii de coagulare sanguină însoţite de scăderea nivelului seric al complementului.

C. Răspunsul imun mediat prin celule

Mai multe tipuri de răspuns imun au loc în absenţa anticorpilor, medierea fiind realizată de limfocite T sensibilizate. Aceste tipuri de răspuns imun sînt transferabile de asemenea prin celule T şi sînt suprimate ca urmare a eliminării celulelor T din organism (aplazie timică congenitală, timectomie la noul născut, administrare de ser antilimfocitar sau anti-theta etc.).

Răspunsul imun mediat celular are o bază morfologică diferită de cea a răspunsului imun mediat prin anticorpi. O serie de studii imunomorfologice, realizate cu mai mulţi ani în urmă de şcoala din Londra (Türck, 1967 ; Spector, 1967), au evidenţiat modificările induse la nivelul ţesutului limfoid ca urmare a administrării unui antigen solubil înglobat fie în adjuvant Freund simplu (pentru inducerea anticorpilor), fie în adjuvant Freund complet (pentru inducerea sensibilităţii imune mediată celular). Pentru studiu au fost aleşi ganglionii limfatici retroauriculari (după administrarea antigenului subcutanat în ureche) sau ganglionii poplitei (după administrarea plantară a antigenului) deoarece sînt oligosintetici la animalul normal, prezentînd o corticală îngustă, cu mici foliculi primari şi centri germinativi foarte slab activi, medulara fiind săracă în plasmocite. La asemenea ganglioni devine posibil să se urmărească modificări mai line, care au loc în medulară şi în corticală, permiţînd studiul reacţiilor diferenţiate între răspunsul imun prin anticorpi şi cel prin limfocite T.

Rezultatele obţinute au arătat că, după administrarea antigenului în adjuvant Freund simplu (*răspuns imun mediat prin anticorpi*), nu se observă modificări în ganglionii limfatici în primele 5—6 zile; apoi se constată o activare a centrilor germinativi foliculari din corticală, iar la 7—8 zile apar în medulară plasmocite, la care — prin imunofluorescenţă — se pot pune în evidenţă anticorpi specifici. La 8—9 zile de la administrarea antigenului devine posibil să se depisteze anticorpi în sîngele periferic.

După administrarea antigenului în adjuvant Freund complet (ceea ce realizează un *răspuns imun mediat celular*), se observă modificări în ganglionii limfatici încă din ziua a doua, cînd foliculii germinativi se măresc, suprafeţele ocupate de aceştia debordînd pînă în medulară; suprafeţele astfel constituite au fost denumite *arii paracorticale* (v. cap. I, A). În cea de-a patra zi, ariile paracorticale ocupă cam o treime din întregul ganglion limfatic. Concomitent, apar celule pironinofile mari, în diviziune rapidă („imunoblaşti"), care acoperă cam 20% din aria paracorticală şi constituie peste 10% din întregul ganglion. Medulara, mult comprimată, ajunge să prezinte unele plasmocite în zilele 6—7. Anticorpii

circulanți sînt evidențiabili la 9—10 zile [33], în timp ce intradermoreacția de tip întîrziat se pozitivează net mai devreme, de obicei în ziua a cincea de la administrarea antigenului.

„Imunoblaștii" sînt rezultatul diferențierii blastice și activării proliferative a celulelor T din centrii germinativi. Din fiecare limfocit T stimulat se nasc, prin diviziune, cîte 2 limfociți mici sensibilizați, așa cum rezultă din studiile autoradiografice efectuate pe ariile paracorticale (Türk, 1967).

Răspunsul imun mediat celular se caracterizează printr-o reacție de transformare blastică, urmată de proliferarea limfocitelor stimulate de antigen. Aceste procese nu conduc la apariția de celule diferențiate (de tipul plasmocitelor, spre exemplu) și nici nu se însoțesc de sinteză de anticorpi. Răspunsul proliferativ limfocitar din imunitatea mediată celular duce însă la eliberarea de limfokine, mediatori moleculari în acest tip de imunitate (v. cap. II, A).

Pentru aprecierea capacității de răspuns imun mediat celular a unui organism, o primă informație importantă o constituie evaluarea numărului de limfocite T reactive. Aceasta se poate obține fie prin *testul de rozetare spontană* în prezența eritrocitelor eterologe, fie prin determinarea răspunsului limfocitar proliferativ *in vitro* în prezența unui mitogen adecvat pentru celula T (PHA, Con A) (Păunescu și colab., 1979).

Pentru identificarea unei stări de imunitate mediată celular, testul de răspuns limfocitar proliferativ se practică cu antigene specifice, care sînt mitogene pentru celula T sensibilizată. Antigenul în asemenea teste poate fi : *(a)* sub formă de agregate solubile ; *(b)* sub formă particulară (celulă) ; *(c)* purtat de macrofage care l-au procesionat în prealabil (Păunescu, 1975).

Răspunsul proliferativ limfocitar ca urmare a stimulului antigenic este un proces complex, cu implicații metabolice variate, a căror succesiune în timp implică cel puțin trei etape.

1) Într-o primă *etapă, timpurie,* au loc modificări ale metabolismului fosfolipidic, un schimb ionic masiv, cu acumulare de cationi, aminoacizi specifici și alte substraturi, precum și activarea protein-kinazei dependentă de AMP ciclic. Între aceste modificări există o interdependență ; modificările din metabolismul fosfolipidic (Resch, 1976) au drept rezultat fluidificarea membranei celulare, ceea ce permite o activare a schimburilor metabolice la acest nivel și stimularea activității protein-kinazei, care prepară condițiile pentru sinteza de proteine și RNA.

2) A doua *etapă, intermediară,* devine evidentă în 1—6 ore de la stimulul antigenic și se caracterizează printr-o intensificare a sintezei de proteine și RNA, concomitent cu creșterea activității decarboxilazelor ornitinică și a S-adenozilmetioninei, cu producerea de limfokine și cu apariția capacității citotoxice.

3) În final, în cursul *etapei tîrzii,* care devine evidentă în 2—5 zile de la stimulul antigenic (și este în funcție de natura acestuia) se declanșează sinteza de DNA și mitoza.

---

[33] Administrarea unui antigen *in vivo* nu conduce la instalarea unei imunități mediată numai prin anticorpi sau numai prin celule, ci se dezvoltă ambele tipuri de imunitate, cu predominanța uneia din ele.

Rolul cAMP în reglarea acestor procese apare deosebit de important (Lucas și Klimpel, 1977). În faza timpurie, nivelul cAMP crește concomitent cu activitatea protein-kinazei, pentru ca ulterior — la sfîrșitul etapei intermediare — nivelul cAMP să scadă. Dacă nu are loc această scădere (sau dacă se adaugă cAMP la sistemul testat), atunci sinteza de DNA nu mai este inițiată. Devine astfel posibil ca stimularea limfocitelor să nu ajungă pînă la mitoză, ci să se oprească în *faza premitotică*, care asigură totuși producerea de limfokine și dezvoltarea funcțiilor biologice specifice limfocitului T: citotoxicitatea, capacitatea de a coopera cu alte celule competente (limfocite B sau T și macrofage), potențialul supresor.

În felul acesta apare evidentă posibilitatea de diferențiere între sinteza DNA (și proliferare), pe de o parte, și eliberarea de limfokine și maturarea funcțiilor specifice celulei T efectoare, pe de altă parte (Lucas și Klimpel, 1977).

Disocierea posibilă în cele două direcții permite să se înțeleagă mai bine mecanismul de diferențiere a funcțiilor efectoare ale limfocitelor T și, concomitent, mecanismele prin care un răspuns la stimulul imun al celulei T poate duce la eliberarea de limfokine (MIF, interferon) în absența proliferării.

După cum s-a menționat (cap. II, A), la șoarece, printre celulele T efectoare au putut fi diferențiate — în funcție de tipul de antigene Lyt prezentate la suprafața membranei — mai multe subseturi. Dintre acestea, au beneficiat de o investigație mai amplă subseturile de celule ajutătoare, celule T care acționează în culturi limfocitare amestecate (MLC) și celule T citotoxice, toate participante la diferite forme de imunitate mediată celular. O altă categorie de celule T, supresoare, a fost de asemenea mult studiată în ultimii ani; celulele T supresoare contribuie la reglarea răspunsului imun prin blocarea activității celulelor T ajutătoare (v. cap. II, A).

Cooperarea celulară în imunitatea mediată celular cuprinde procese de interacțiune între diferite subseturi de limfocite T, pe de o parte, și interacțiunea dintre macrofage și limfocitul T, pe de altă parte.

Cooperarea T — T rezultă din potențarea funcțională a două subseturi de limfocite T. Un astfel de sinergism a fost demonstrat în cazul unui amestec de timocite și celule T din ganglionii limfatici (Cantor și Asofsky, 1970): amestecul produce o reacție MLC cu un număr total de celule mai mic decît cel necesar pentru a induce aceeași reacție fie numai cu celule timice, fie numai cu cele din ganglionii limfatici. Același sinergism se observă cînd celulele timice sînt înlocuite cu celule splenice, iar cele ganglionare cu celule din circulația periferică. Sinergii asemănătoare au mai fost observate și în cazul imunității de transplantare (reacție grefă contra gazdă), a proceselor de limfocitotoxicitate, imunitate antitumorală, rozetare eritrocitară.

Timocitele și, în bună măsură, limfocitele T splenice sînt recirculante, au viață lungă, sînt rezistente la cortizon și sensibile la serul anti-theta (v. cap. II, A); ele sînt capabile de efect „ajutător" față de limfocitele T din ganglionii limfatici sau sîngele periferic, mijlocind sensibilizarea acestora și diferențierea lor în limfocite T efectoare (citotoxice, supresoare, rozetante etc.).

Ca şi în cazul cooperării T—B, capacitatea ajutătoare a limfocitului T poate fi amplificată şi în cazul cooperării T—T prin transfer de limfocite alogene. Acest *efect alogenic* în imunitatea mediată celular a fost observat la cobai care dezvoltă reacţii de grefă contra gazdă : aceste organisme pot respinge limfoblaştii leucemici administraţi, în timp ce cobai similari, dar lipsiţi de reacţii grefă contra gazdă, nu pot respinge celulele leucemice. S-a observat de asemenea că administrarea de celule alogene intensifică reacţiile de hipersensibilitate tardivă.

Cooperarea macrofag—limfocit T rezultă din activitatea optimală a limfocitelor la stimulii aloantigenici, antigenici şi mitogeni atunci cînd macrofage singenice sînt prezentate (Rosenstreich şi Oppenheim, 1976).

Interacţiunile macrofag—limfocit T se exercită în ambele sensuri : *(a)* macrofagele leagă antigenul şi-l prezintă limfocitului, iniţiind şi regularizînd faza primară a procesului de hipersensibilitate tardivă (v. cap. II, C); *(b)* limfocitul T induce activarea macrofagului, care devine apt să intervină în faza efectoare a imunităţii mediată celular.

Odată cu fixarea antigenului, macrofagul leagă aloantigenele, precum şi receptorii multivalenţi lecitinici de pe suprafaţa celulei T, totalitatea acestor interacţiuni reprezentînd semnalul iniţial de activare a limfocitului T (Ranney, 1977). La rîndul său, celula T răspunde prin transmitere de semnale (prin contact între membrane) şi/sau mediatori solubili cu activitate proteazică pentru celulele aderente din vecinătate. Semnalul recepţionat de la celula T provoacă din partea macrofagului un răspuns alterat, de feedback, care iniţial facilitează şi apoi blochează proliferarea limfocitelor T (şi B) ce participă la cooperare. Semnalul feedback al macrofagului este produsul unui complex de mediatori solubili eliberaţi de fagocit, dintre care au fost identificaţi (Ranney, 1977) : factorul de activare limfocitară ; o altă proteină (sau grup de proteine) stimulatoare, cu G. M. între 15 000 şi 21 000 daltoni (Calderon şi Unanue, 1975) ; şi o proteină supresoare cu greutate molecular mică (12 000 daltoni). Atît factorii stimulatori cît şi cel supresor nu sînt nici antigen-specifici şi nici genetic-specifici ; în funcţie de concentraţia fiecăruia, ei pot induce un efect stimulator sau inhibitor asupra răspunsului proliferativ al celulei T (şi B) la antigenul respectiv.

Ca urmare a stimulării sale prin antigen, limfocitul T devine capabil să secrete o serie de mediatori *(limfokine)*, dintre care unii activează macrofagele (David, 1975), făcîndu-le apte să distrugă microorganismele endocitate (Mackaness, 1969 ; Păunescu, 1965 ; Păunescu şi Hadârcă, 1964), să elibereze interferon, să omoare paraziţi şi celule tumorale. Un preparat limfokinic complex obţinut din celule T sensibilizate şi stimulate antigenic (David, 1975) realizează amplificarea aderenţei macrofagelor, măreşte mişcarea valurilor membranei macrofagice, accelerează glicoliza oxidativă, măreşte numărul de granule lizosomale în citoplasmă şi capacitatea bacteriostatică a macrofagului şi îi intensifică activitatea tumoricidă.

Diferenţierea limfocitului T sensibilizat are loc după iniţierea răspunsului imun mediat celular, ca urmare a contactului primar cu antigenul şi macrofagele.

Studiul proceselor implicate în acest fenomen a fost întreprins pe culturi limfocitare mixte, în care s-au urmărit condiţiile de diferenţiere şi maturare a *limfocitelor T citotoxice* (Ritter şi colab., 1975). Sistemul de

testare a fost constituit din timocite cortizon-rezistente prelevate de la şoareci C3H şi puse în contact cu celule limfoide splenice şi iradiate, provenite de la şoareci DBA/2; în aceste condiţii, celulele splenice iradiate (neproliferative) se dovedesc stimulatoare pentru timocitele cortizon-rezistente, care răspund proliferativ şi apoi devin intens citotoxice pentru limfocite neiradiate de DBA/2.

Stimularea timocitelor şi dezvoltarea limfocitelor T citotoxice era dependentă de prezenţa macrofagelor provenite de la DBA/2 sau de origine alogenică. Efectul stimulator al prezenţei macrofagelor a putut fi înlocuit prin adăugarea de foarte mici cantităţi de lipopolizaharid. Dacă însă odată cu lipopolizaharidul se adaugă şi ser imun antimacrofage, efectul stimulator al lipopolizaharidului era neutralizat. Aceste rezultate au fost interpretate în sensul că, în absenţa macrofagelor de origine DBA/2, lipopolizaharidul adăugat poate stimula puţinele macrofage antrenate în cultură odată cu suspensia de timocite; ca argument în favoarea acestei interpretări a fost considerat faptul că serul imun anti-macrofage poate neutraliza activarea celor cîteva macrofage de origine timică, prezente în cultură, pe care lipopolizaharidul le putea activa.

Date similare privind rolul macrofagelor în procesul de diferenţiere a limfocitelor T sensibilizate au fost aduse de Rosenthal şi colab. (1975), care au constatat că limfocitul T sensibilizat nu răspunde la PPD cînd lipsesc macrofagele din sistem. Dacă la sistem se adaugă macrofage histocompatibile, stimularea prin PPD a celulei T are loc masiv. Dacă însă macrofagele adăugate sînt semialogenice, stimularea celulei T se reduce cu 50%, iar dacă macrofagele adăugate sînt alogenice, stimularea nu mai are loc. Aceste rezultate, obţinute la cobai şi verificate şi pe şoarece, demonstrează că, pentru a răspunde imun, limfocitul T trebuie să recunoască atît antigenul cît şi un produs al genelor *MHC* sau *Ir* aflat pe suprafaţa macrofagului (v. cap. II, C şi B).

Generarea de celule T citotoxice necesită nu numai prezenţa macrofagelor ci şi a limfocitelor T ajutătoare. O experienţă demonstrativă în acest sens poate fi întreprinsă cu culturi limfocitare mixte, formate din timocite C3H şi celule splenice de DBA/2. După cum s-a menţionat, în acest sistem are loc proliferarea de timocite şi dezvoltarea de celule T citotoxice. Dacă însă, înainte de a fi puse în cultura mixtă, celulele splenice DBA/2 sînt tratate cu ser imun antitheta (procedeu care inactivează toate limfocitele T, inclusiv cele ajutătoare), atunci această suspensie de celule splenice nu mai este capabilă să stimuleze timocitele şi să dezvolte celule T citotoxice.

Această experienţă nu demonstrează numai necesitatea prezenţei antigenului şi a unui limfocit T ajutător pentru inducerea dezvoltării limfocitului T citotoxic, dar arată şi faptul că funcţia biologică a unei celule T diferenţiată (celulă ajutătoare, citotoxică, supresoare) nu poate fi substituită printr-un limfocit ce aparţine unui alt subset de celule T.

Este dealtfel bine precizat în prezent că limfocitul T ajutător nu se converteşte niciodată în celulă T supresoare ori celulă T citotoxică, şi nici invers (Wigzell, 1976).

Interpretarea complexului actual de date privind rolul diferitelor subseturi de celule T în imunitatea mediată celular duce la identificarea

mai multor etape în cursul dezvoltării acestui tip de răspuns imun la şoarece :

a) Celulele T eliberate de timus, şi considerate „celule T virgine" deoarece nu au venit în contact cu antigenul, rămîn în parte în circulaţie, unde îşi conservă atît caracterele antigenice de suprafaţă (Lyt 1, 2, 3 ; Thy I$^+$, MHC^{3+}), cît şi cortizon-rezistenţa şi capacitatea de supravieţuire îndelungată. Alte celule eliberate de timus se localizează în organele periferice (de ex. splina), unde suferă interacţiuni locale, devin cortizon-sensibile şi îşi reduc considerabil durata de viaţă. Aceste celule T periferice devin capabile să dezvolte o funcţie imună ajutătoare.

b) Celulele T potenţial ajutătoare (Lyt 1 ; MHC ; Ia-1) devin sensibile la antigen dacă ajung în prezenţa acestuia şi a macrofagelor.

c) Limfocitul T sensibilizat, repus în prezenţa antigenului, a macrofagelor şi a altei celule T („virgină" imunologic) capabil să recunoască antigenul, induce transformarea acesteia din urmă în limfocit T citotoxic sau în limfocit T supresor (Lyt 2, 3 ; MHC ; Ia-S), care sînt celule efectoare în răspunsul imun mediat celular.

d) Pentru realizarea efectului imun particular (citoliză imună mediată celular) prin intermediul celulei T diferenţiată (limfocit T citotoxic), este necesar ca celula ţintă să poarte la suprafaţă atît antigenul specific, cît şi produsul genei *MHC* corespunzătoare celulei care a stimulat diferenţierea iniţială a celulei T efectoare.

e) Restricţia impusă de antigenele MHC există înainte ca celula T să interacţioneze cu antigenul în cadrul răspunsului primar. După cum s-a menţionat (cap. II, A), celulele T ce părăsesc timusul sînt deja preselectate să interacţioneze preferenţial cu antigene purtate pe structuri ce prezintă cel puţin un produs alelic al MHC omolog. Această restricţie este amplificată în cursul multiplicării clonale ce rezultă din interacţiunea primară a celulei T cu antigenul şi ea rămîne înregistrată în genomul celulei efectoare şi în acela al celulelor T de memorie.

D. *Hipersensibilitatea întîrziată*

Într-o serie de infecţii virale sau bacteriene (cu germeni facultativ intracelulari), inocularea intradermică a antigenului specific duce la apariţia unei reacţii inflamatorii caracteristică, care se dezvoltă la locul de administrare a antigenului. Această reacţie este dominată de un infiltrat cu mononucleare (limfocite şi macrofage) şi are o intensitate maximă la 48—72 ore, ceea ce a determinat etichetarea sa ca „reacţie dehipersensibilitate *întîrziată*".

Prototipul proceselor de hipersensibilitate întîrziată este reacţia la tuberculină, motiv pentru care aceste reacţii sînt cunoscute şi sub numele de „reacţii *de tip tuberculinic*" (Păunescu, 1975). Ele aparţin „reacţiilor de tip IV", după clasificarea lui Gell şi Coombs.

În cazul stării de hipersensibilitate întîrziată, intradermoreacţia cu antigen specific are o evoluţie caracteristică : *(a) local*, în primele 2—4 ore se observă o acumulare de polimorfonucleare, urmată de un aflux din

ce în ce mai important de mononucleare, cu predominanță limfocitară; limfocitele se diferențiază blastic și proliferează; afluxul celular crează o indurație tegumentară, care de obicei devine violacee (din cauza vasodilatării) și care atinge maximul de intensitate către 72 de ore; în cazul reacțiilor foarte intense, apare o zonă centrală de necroză; *(b) general,* se constată un puseu febril, limfopenie și reacție focală la distanță.

Răspunsul „întîrziat" la administrarea antigenului este rezultatul unei reacții bifazice: *timpuriu,* acumularea de polimorfonucleare reprezintă o *reacție nespecifică* imunologic, de tip corp străin; *ulterior, după 4–6 ore* de la administrarea antigenului, se constituie veritabila *reacție specifică,* caracterizată prin acumulare de mononucleare, printre care limfocite sensibilizate.

Caracteristic pentru aceste reacții nu este atît momentul „întîrziat" al intensității maxime a procesului, ci participarea dominantă și nemijlocită a *componentei celulare mononucleară* (limfocite și macrofage) și lipsa de participare a anticorpilor circulanți. Absența participrăii acestora din urmă rezultă și din faptul că reacția de hipersensibilitate întîrziată se dezvoltă — ca urmare a introducerii antigenului — atît în țesuturi nevascularizate cum este corneea, cît și în culturi celulare, în ambele situații anticorpii fiind absenți. Pentru aceste motive, reacțiile de hipersensibilitate întîrziată mai sînt cunoscute și sub denumirea de „hipersensibilitate *celulară*".

Specificitatea imunologică a acestor reacții este susținută de mai multe argumente, și anume:

a) pentru declanșarea acestor reacții este nevoie ca organismul testat să mai fi venit anterior în contact cu antigenul declanșator;

b) inițierea reacției celulare întîrziată are loc numai după administrarea aceluiași antigen care a indus sensibilizarea, sau a unui alt antigen, care trebuie să aibă un „purtător" haptenic identic cu cel al antigenului inductor;

c) între prima administrare (sensibilizantă) a antigenului și cea de-a doua (declanșatoare) este necesară o *perioadă de latență,* care durează 5–7 zile;

d) procesele anamnestice, de *memorie imunologică,* sînt demonstrabile și în cazul hipersensibilității celulare;

e) de asemenea, este posibilă realizarea desensibilizării, prin administrarea repetată a antigenului;

f) starea de hipersensibilitate întîrziată poate fi transferată la organisme normale („virgine" imunologic) prin administrarea de limfocite provenite de la un organism hipersensibilizat (administrarea de ser provenit de la organisme sensibilizate nu permite transferul hipersensibilității întîrziate, ceea ce demonstrează, odată în plus, lipsa de participare a anticorpilor la aceste procese).

Intradermoreacția de tip tuberculinic constituie un test de mare sensibilitate la om, unde doze de numai 0,02 μg antigen (PPD) pot pune în evidență starea de hipersensibilitate întîrziată. Cobaiul și iepurele de asemenea răspund la intradermoreacție, însă sînt necesare doze de 50–200 ori mai mari decît la om. Șoarecele, șobolanul și păsările cu hipersensibilitate întîrziată nu răspund caracteristic la inocularea i.d. a antigenului specific; la șoarece, pentru depistarea sensibilității celulare se utilizează

testul plantar, prin inocularea antigenului în pernițele plantei și determinarea ulterioară (48—72 ore) a creșterii diametrului plantar.

Evidențierea „in vitro" a hipersensibilității întîrziate este posibilă prin mai multe teste:

a) *Transformarea blastică* a limfocitelor circulante de la un organism cu hipersensibilitate întîrziată are loc *in vitro* atunci cînd în cultură se adaugă antigenul sensibilizant. Fenomenul este imunologic specific deoarece transformarea are loc numai în prezența antigenului imunizant. Specificitatea și gradul de sensibilitate al fenomenului sînt sensibil egale cu cele ale intradermoreacției realizată *in vivo* (Păunescu și colab., 1979).

Transformarea blastică *in vitro* prin antigen este un răspuns caracteristic stării de hipersensibilitate întîrziată. Testul de transformare blastică prin antigen a limfocitelor circulante, provenite de la un organism lipsit de hipersensibilitate întîrziată dar posedînd anticorpi circulanți specifici pentru antigen, este pozitiv numai în cazul cînd anticorpii sînt de tip reaginic (IgE, IgG) și în concentrație scăzută (Bach, 1978).

Studii analitice efectuate pe culturi de limfocite în transformare blastică au arătat că: *(a)* pentru inițierea reacției la antigen este necesară prezența a cel puțin 1% limfocite T sensibilizate; *(b)* limfocitele T sînt celulele care răspund proliferativ la stimulul antigenic (v. mai departe); transformarea blastică poate fi mult amplificată dacă cultura se practică cu limfocite T purificate prin rozetare (v. cap. II, A); *(c)* prezența limfocitelor B nu este necesară pentru obținerea răspunsului proliferativ (proliferări ale limfocitelor B care au fost uneori remarcate sînt rezultatul eliberării de către celula T a unor factori mitogeni sau de transformare) *(recrutare imunologică*, v. mai departe); *(d)* macrofagele dețin un rol esențial în prelucrarea antigenului stimulant și prezentarea lui limfocitului T, așa cum rezultă din faptul că preincubarea macrofagelor cu antigenul realizează un stimul mai eficace decît adăugarea directă a antigenului la cultură.

b) *Inhibarea migrării macrofagelor* este o reacție revelantă pentru starea de hipersensibilitate întîrziată. Testul este realizabil *in vitro* și constă din evidențierea capacității antigenului de a inhiba migrarea leucocitelor (conținute într-un cheag sanguin sau într-un tub capilar), atunci cînd provin de la un organism cu hipersensibilitate celular față de respectivul antigen (Păunescu, 1975). Testul de inhibiție este specific, oprirea migrării macrofagelor fiind realizată numai de imunogenul sensibilizant; există un bun paralelism între răspunsul *in vivo*, ca urmare a administrării i.d. a antigenului, și testul *in vitro* de inhibiție a migrării macrofagelor (Păunescu, 1975).

Inhibiția migrării este provocată de un *factor de inhibiție a migrării (MIF)*[34], care este eliberat de limfocitele T sensibilizate ca urmare a cultivării circa 6 ore cu antigenul specific (sensibilizant).

Factorul de inhibiție a migrării macrofagelor este termolabil (inactivabil în 30 min la 56°C), este alterabil prin păstrare mai multe zile la 4°C, este sensibil la acțiunea enzimelor proteolitice (tripsină, chimotripsină), a neuraminidazei și fucozidazelor. Are o structură sialoglicoproteică, cu G.M. 20 000—60 000 daltoni. Nu este dializabil. Migrează electro-

[34]) MIF = migration inhibitory factor.

foretic imediat după prealbumină. Nu-şi reduce activitatea după trecere prin coloane cu imunoadsorbent anti-imunoglobulinic, ceea ce demonstrează că nu are proprietăţi de Ig sau anticorp, cu toate că este citofil pentru macrofage.

În prezenţa antigenului specific, MIF este sintetizat şi eliberat de limfocite sensibilizate înainte ca acestea să sufere transformarea blastică şi proliferare. Sinteza intralimfocitară a MIF este blocată de prezenţa inhibitorilor sintezei proteinelor (puromicină, cicloheximidă) sau a sintezei RNA (actinomicină D, rifamicine).

MIF poate acţiona asupra macrofagelor în mod direct, în absenţa antigenului, ceea ce este considerat drept argument pentru un mecanism de acţiune nespecific antigenic. Pe de altă parte, faptul că prezenţa antigenului amplifică semnificativ acţiunea MIF, nu poate exclude existenţa unui mecanism de acţiune antigen-specific (Păunescu, 1972).

MIF realizează inhibiţia migrării macrofagelor concomitent cu amplificarea aderenţei lor la suprafeţe de sticlă (nylon); probabil şi cu contribuţia *factorului de activare a macrofagelor* (v. cap. II, A), are loc o intensificare a mişcărilor membranei citoplasmatice a macrofagului, cu creşterea capacităţii fagocitare, a biosintezei lipidelor, a degradării glucozei pe calea şuntului hexozomonofosfatului, a consumului de O_2 şi a producerii de peroxid de hidrogen (v. cap. II, C).

c) *Multiplicarea virusurilor în limfocite*, fenomen care are loc numai în cazul limfocitelor T în curs de proliferare, constituie un alt test *(testul Bloom)* de evidenţiere a stării de hipersensibilitate celulară. Testul se bazează pe posibilitatea de a realiza multiplicarea unui virus (rujeolos, poliomielitic etc.) în limfocite sensibilizate şi aduse în stare de proliferare prin stimulare cu antigenul sensibilizant. Multiplicarea virală este proporţională cu numărul de limfocite ce răspund proliferativ la prezenţa antigenului, iar evidenţierea proliferării se realizează prin provocarea de plaje de liză pe un monostrat de celule sensibile la efectul citopatogen al virusului.

Inducerea hipersensibilităţii întîrziate se realizează, pe cale naturală, prin infecţii cu germeni facultativ intracelulari: *Mycobacterium, Listeria, Brucella, B. tularensis* etc. Procesul de hipersensibilitate întîrziată, declanşat local, ca urmare a inoculării intradermice de suspensie de vaccină la subiecţi ce avuseseră anterior variolă, a fost raportat de către Jenner încă din 1801. Ulterior, în 1890, Robert Koch descrie hipersensibilitatea întîrziată în tuberculoză, pe care o induce la cobai prin inocularea de bacili vii, iar reacţia specifică locală o declanşează prin administrarea de bacili morţi sau de filtrate încălzite ale unei culturi de bacili tuberculoşi (tuberculină).

Hipersensibilitatea întîrziată poate fi obţinută cu orice antigen solubil dacă este administrat împreună cu substanţe adjuvante provenite din bacilul Koch. Antigenul solubil de administrat se emulsionează în amestec de ulei de parafină 85% şi lanolină 15% *(adjuvant Freund)*, la care se adaugă fie celule omorîte de *Mycobacterium tuberculosis (adjuvant Freund complet)*, fie ceară D extrasă din bacilul tuberculozei var. umană. Ceara D, care mijloceşte sensibilizarea de tip celular, conţine 50% acizi micolici, 48% polizaharid de arabinoză, galactoză şi manoză şi 2% un

oligopolipeptid constituit din 7 molecule de alanină şi cîte una de acid glutamic şi acid diaminopimelic (Păunescu, 1975). Alte tulpini de micobacterii (de origine bovină, aviară sau saprofite) conţin o ceară D care este lipsită de oligopeptid şi care, concomitent, este lipsită şi de proprietatea de a induce hipersensibilitatea celulară. Rezultă deci că acţiunea „adjuvantă" caracteristică a cerii D este strîns legată de prezenţa oligopeptidului.

Starea de hipersensibilitate celulară poate fi indusă şi pe cale obişnuită, în absenţa cerii D, răspunsul imun fiind asigurat de antigene specifice, ca şi în cazul celorlalte tipuri de hipersensibilitate imună, mediate prin anticorpi. Acesta este cazul pentru majoritatea stărilor infecţioase, în care s-a putut demonstra, cel puţin în faza iniţială, şi o stare de hipersensibilitate de tip întîrziat la unul dintre antigenele celulei infectante. Un exemplu în acest sens îl constituie tipurile de răspuns imun la cobaiul vaccinat antipneumococic. Comparativ cu răspunsul cobaiului normal (neimunizat), cel vaccinat reacţionează diferit (tabelul nr. 10).

Tabelul nr. 10

Tipuri de răspuns imun la cobaiul vaccinat cu pneumococ tip III omorît

	La cobai vaccinat	*La cobai neimunizat*
1. Inoculare de pneumococ tip III viu	Fără urmări	Infecţie mortală
2. Inoculare i.d. de polizaharid pneumococic III	Reacţie Arthus	Nici o reacţie
3. Inoculare i.v. de polizaharid pneumococic III	Şoc anafilactic	Nici o reacţie
4. Inoculare i.d. de proteină pneumococică	Reacţie de hipersensibilitate întîrziată	Nici o reacţie

După cum rezultă din tabel, vaccinarea duce la crearea unei stări de protecţie faţă de infecţia cu germenul viu, dar realizează concomitent şi instalarea sensibilizării imune, atît de tip umoral (reacţie Arthus, şoc anafilactic), cît şi de tip celular.

Reacţii celulare de tip întîrziat se obţin şi în cazul infecţiilor cu streptococ, cu *Corynebacterium parvum*, cu *Salmonella typhi* etc., ca şi în cazul multor infecţii virale : rujeolă, parotidită epidemică, varicelă, herpes etc. Toate infecţiile micotice (candidoză, aspergiloză, criptococoză, blastomicoză, coccidiomicoză, histoplasmoză) induc sensibilizare de tip celular.

O serie de substanţe cu G.M. sub 1 000 daltoni, de tipul dinitrofenolului (DNP), clorurii de picril, dinitroclorbenzenului (DNCB), dinitroflorbenzenului (DNFB) şi oxazolonei, au proprietatea de a forma legături covalente cu grupările sulfhidrilice şi aminice ale proteinelor din piele, realizînd astfel conjugate proteinice cu calităţi antigenice. Contactul

tegumentar cu astfel de agenți chimici realizează așa-numitele *dermatite de contact*, care sînt rezultate din sensibilizarea limfocitelor cu conjugatele proteinice ce se formează ; în felul acesta, la un nou contact cu același agent chimic, se dezvoltă local o reacție de hipersensibilitate întîrziată.

Complexul DNP cuplat cu o albumină serică bovină (BSA) sau umană (HSA), dacă este administrat la cobai, induce starea de hipersensibilitate întîrziată. Dacă imunizarea se face cu conjugatul DNP-BSA, răspunsul tegumentar cel mai intens se poate obține tot cu DNP-BSA. Inocularea intradermică de BSA singură dezvoltă o reacție pozitivă dar mai puțin intensă, în timp ce inocularea haptenei (DNP) singură sau cuplată cu o altă proteină (DNP-HSA) nu declanșează reacția. Este deci evident că răspunsul imun de hipersensibilitate întîrziată este specific direct pentru complexul haptenă + purtător (Benacerraf, 1978), slab specific pentru purtătorul haptenei și practic nespecific pentru haptenă. Această proprietate este comună tuturor fenomenelor imunologice care rezultă din interacțiunea directă a antigenului cu limfocitul T (v. cap. II, A).

Rolul limfocitului T în hipersensibilitatea întîrziată. Hipersensibilitatea întîrziată este un proces imun mediat prin limfocite, transferabil prin celule limfoide vii și nu prin anticorpi, proprietăți similare cu cele ale imunității de transplantare (v. cap. III, F) și ale imunității antitumorale (v. cap. III, G). Ca și în celelalte forme de imunitate mediată celular (v. cap. III, C), în hipersensibilitatea întîrziată celula efectoare este limfocitul T circulant, capabil să reacționeze specific la contactul cu antigenul *(limfocit T sensibilizant)*.

După cum s-a menționat (v. cap. III, C), instalarea stării de hipersensibilitate celulară este însoțită de modificări morfologice caracteristice la nivelul ariilor timus-dependente din ganglionii limfatici care drenează zona în care antigenul a fost inoculat. La 4 zile de la inocularea antigenului, 10% din populația limfocitară totală a ganglionului limfatic regional este formată din celule pironinofile, care după 24 de ore se transformă în limfociți mici, de tip T (stimulabili proliferativ prin PHA, sensibili la acțiunea serului antitheta), capabili să transfere starea de hipersensibilitate specifică la un animal virgin imunologic.

Transferul hipersensibilității celulare este realizabil numai prin limfocite T provenite de la un organism sensibilizat. În general, experimentele de transfer au fost realizate cu suspensii de celule limfoide nepurificate, care cuprindeau variate subpopulații de limfocite, precum și macrofage. Eliminarea acestora din urmă (prin aderență sau fagocitoză), nu alterează capacitatea suspensiei de a transfera sensibilitatea imună celulară. De altfel, limfocitele din canalul toracic — care sînt practic lipsite de macrofage — pot realiza transferul hipersensibilității întîrziate instalată în cursul proceselor imune ce însoțesc alogrefele[35] În schimb, așa cum s-a demonstrat la șoarece, eliminarea limfocitelor T din suspensia de transfer

[35] Brent și Medawar (v. Brent și Holborow, 1974) au arătat că limfocitele din canalul toracic sau din ganglionii limfatici, prelevate de la un cobai purtător de alogrefă de piele, sînt capabile să transfere specific imunitatea mediată celular față de antigenele alogrefei ; transferul este demonstrabil prin reacția de hipersensibilitate întîrziată ce apare la organismul receptor al transferului, ca urmare a inoculării de antigene provenind din alogrefă.

prin tratarea acesteia cu ser antitheta, duce la suprimarea completă a transferului adoptiv.

Macrofagele nu sînt necesare în procesul de transfer adoptiv, dar au rol hotărîtor în declanșarea reacției de hipersensibilitate, ele asigurînd limfocitului sensibilizat accesibilitatea corespunzătoare la antigenul declanșator. Astfel, inocularea de limfocite T sensibile la organisme receptoare în prealabil iradiate letal (deci nereactive imunologic) nu permite ca acestea să dezvolte reacții de hipersensibilitate celulară decît dacă se inoculează concomitent și celule de măduvă osoasă precursoare ale macrofagelor.

Experimentele de transfer al hipersensibilității tuberculinice și al celei de contact cu diferite haptene (clorură de picril, clorură de ortoclorbenzen), întreprinse la cobai de către Brent și Chase (v. Păunescu, 1975), au arătat că succesul transferului adoptiv depinde de numărul de celule transferate (5×10^8), de calea de administrare (i. v. sau i. p., dar nu s.c. sau i.d.) și de integritatea și viabilitatea limfocitelor transferate. Un rol important în reușita transferului hipersensibilității întîrziate, și mai ales în durata *imunității adoptive* realizată în acest mod, îl deține histocompatibilitatea dintre donator și receptor. Astfel, spre exemplu, durata hipersensibilității întîrziate realizată prin transfer este mult prelungită cînd *transferul* este realizat *adoptiv*, între organisme singeneice (spre exemplu : între indivizi dintr-o aceeași linie pură de șoareci). Durata este mult scurtată cînd transferul este alogenic. Transferul hipersensibilității celulare nu reușește între animale din specii diferite, în care caz organismul receptor distruge rapid celulele limfoide incompatibile provenite de la donator. Pretratarea suspensiei limfocitare cu cloroform, cu actinomicină D sau cu puromicină, ca și distrugerea celulelor din suspensie prin congelare repetată sau ultrasunare, neutralizează capacitatea de transfer adoptiv a limfocitelor de cobai (Bloom și Chase).

La om însă, Lawrence (v. Păunescu, 1975) a realizat transferul hipersensibilității întîrziate la tuberculină și la proteină M streptococică nu numai prin limfocite circulante, ci și prin extracte și dializate obținute după congelarea lor. *Factorul de transfer* conținut în astfel de dializate își păstrează activitatea după supunere la acțiunea dezoxiribonucleazei și chiar a ribonucleazei și tripsinei. Fără a se cunoaște cu precizie structura sa chimică, există unele date care sugerează că factorul de transfer ar corespunde unei mici molecule de RNA cuplată cu un peptid.

Factorul de transfer are o moleculă relativ mică și prezintă proprietăți biologice caracteristice : nu este antigenic și nu are proprietăți imunoglobulinice ; nu este inactivat prin anticorpi specifici pentru antigenul care declanșează respectiva hipersensibilitate întîrziată ; induce starea de sensibilitate celulară specifică fără a provoca și sinteză de anticorpi față de antigenul specific hipersensibilității induse. În culturi *in vitro* de limfocite virgine imunologic, adăugarea de factor de transfer provoacă sensibilizarea specifică a limfocitelor, în sensul că acestea devin capabile să răspundă proliferativ la prezența antigenului specific și, concomitent, să elibereze un factor de inhibiție a migrării macrofagelor (MIF).

Factorul de transfer este sintetizat de limfocitele sensibilizate și nu este eliberat spontan de acestea, ci numai ca urmare a contactului lor cu antigenul sensibilizant. Factorul de transfer poate fi obținut *in vitro* din supernatantul culturilor de limfocite sensibilizate și puse în contact cu

antigenul specific; aceste supernatante sînt capabile să sensibilizeze specific limfocite virgine imunologic (v. cap. II, A).

Acţiunea sensibilizantă a factorului de transfer faţă de limfocite singenice virgine imunologic poate fi urmărită în culturi de celule în care se introduc amestecuri de limfocite sensibilizate şi marcate radioactiv împreună cu limfocite nemarcate şi nesensibilizate. Prin adăugarea de antigen specific la astfel de culturi, se observă că răspund proliferativ atît celulele sensibile şi marcate, cît şi cele virgine şi nemarcate. Se consideră că fenomenul are drept substrat sensibilizarea limfocitelor virgine prin factorul de transfer eliberat de limfocitele sensibilizate şi puse în prezenţa antigenului.

Activitatea factorului de transfer şi, în bună măsură, cea a factorului inhibitor al migrării macrofagelor, au condus la precizarea rolului acestora şi altor *mediatori farmacodinamici* în exprimarea procesului de hipersensibilitate celulară (v. şi cap. II, A).

Mecanismele hipersensibilităţii întîrziate au la bază procese de imunitate mediată celular, în care rolul limfocitului T este hotărîtor (v. cap. III, C).

Inducerea stării de hipersensibilitate celulară este iniţiată de recunoaşterea antigenului de către celula T, recunoaştere care este facilitată de prelucrarea parţială a antigenului de către macrofag. Limfocitul T capabil să recunoască antigenul este stimulat de contactul cu acesta, se transformă blastic şi proliferează, dînd naştere la o clonă de celule sensibilizate la antigen. Acest proces are loc cel mai adesea la nivelul ganglionilor limfatici. Majoritatea populaţiei clonei sensibilizate părăseşte apoi ganglionul limfatic şi o parte dintre membrii ei rămîn în circulaţie, unde constituie celule de *memorie imunologică;* restul limfocitelor T sensibilizate trec în organele limfoide periferice, unde sînt găzduite.

Aceste limfocite T periferice sensibilizate au acţiune efectoare: ele pot fixa antigenul, iar dacă acesta este prezent la suprafaţa unei celule (de ex.: celulă infectată viral) au acţiune citotoxică asupra acesteia; în plus, la un nou contact cu antigenul specific, aceste limfocite răspund prin producere şi eliberare de mediatori, care au acţiune asupra altor limfocite nesensibilizate, asupra macrofagelor şi asupra permeabilităţii capilare (Păunescu, 1972).

Exprimarea hipersensibilităţii întîrziate este bine evidenţiabilă la locul de contact dintre antigen şi limfocitul T sensibilizat, în particular în cazul reacţiilor dermice. Ca urmare a eliberării de mediatori farmacodinamici de către limfocitul sensibilizat şi stimulat de antigen, au loc o serie de procese complexe, care realizează tabloul morfologic de infiltrat mononuclear, specific reacţiei de hipersensibilitate întîrziată. Astfel, factorul chemotactic pentru macrofage, eliberat de limfocitul sensibilizat, provoacă un aflux mononuclear continuu amplificat şi facilitat prin acţiunea *factorului de permeabilizare vasculară*; în acelaşi sens, *factorul de inhibiţie a migrării* şi factorul de aglutinare a macrofagelor realizează aglomerarea locală a mononuclearelor acumulate. Concomitent, *factorul mitogen* (blastogen) pentru limfocite induce proliferarea limfocitelor locale, virgine imunologic, iar *factorul de transfer* provoacă sensibilizarea acestora (*recru-*

tare imunologică), realizînd astfel — către 48—72 ore de la declanşarea reacţiei — o amplificare masivă a procesului inflamator (Păunescu, 1980).

Prin *factorul de activare a macrofagelor*, eliberat de limfocitul sensibilizat la contactul cu antigenul, are loc o intensificare semnificativă a activităţii fagocitare a macrofagelor, caracterizată metabolic prin activarea sintezei lipidelor de suprafaţă, amplificarea glicolizei pe calea şuntului hexozomonofosforic, creşterea consumului de oxigen şi a formării de peroxid de hidrogen. Concomitent, activitatea lizosomală este mult intensificată şi, ca rezultat al extracelularizării enzimelor lizosomale, pot apare zone de necroză tisulară (Păunescu, 1972, 1980).

Hipersensibilitatea întîrziată şi imunitatea de protecţie. Faptul că, prin intermediul factorului de activare a macrofagelor, eliberat de limfocitul T sensibilizat în contact cu antigenul specific, în cursul proceselor de hipersensibilitate întîrziată, are loc o semnificativă creştere a eficacităţii fagocitare a macrofagelor, a condus la posibilitatea de evidenţiere a unor corelaţii pozitive între starea de hipersensibilitate celulară a unui organism şi rezistenţa sa la infecţii cu anumiţi germeni. Cel mai elocvent exemplu în acest sens îl constituie infecţia tuberculoasă, în care rezistenţa organismului vaccinat BCG este de regulă proporţională cu intensitatea răspunsului intradermic la tuberculină şi deci cu amplitudinea stării de hipersensibilitate întîrziată (Păunescu şi colab., 1979).

Rezistenţa la infecţie, ca urmare a activării macrofagelor prin *limfokine* eliberate de limfocitele T sensibilizate şi repuse în contact cu imunogenul specific, nu poate fi considerată decît în parte un proces imunologic. În acest sens trebuie subliniată lipsa de specificitate a rezistenţei : macrofagele activate, provenite de la un organism vaccinat BCG, sînt eficiente fagocitar nu numai faţă de bacilul tuberculozei, ci şi faţă de alte bacterii facultativ intracelulare (listerii, brucele etc.), care nu au antigene comune cu micobacteriile (Mackaness, 1969). Latura specific imunologică a procesului apare însă legată de fenomenele anamnestice, şi anume : un organism vaccinat BCG cu mult timp în urmă poate pierde atît capacitatea de răspuns la tuberculină, cît şi reactivitatea macrofagică intensificată ; la un astfel de organism reactivitatea macrofagelor poate fi rapid reamplificată ca urmare a unei revaccinări cu BCG viu sau inactivat prin căldură, în timp ce administrarea de listerii sau brucele, chiar vii, este lipsită de o astfel de acţiune (Mackaness, 1969).

Întrucît readministrarea de BCG în exemplul amintit are acţiune directă asupra celulelor T de memorie pentru antigene BCG, este evident că are loc un răspuns imun rapid, cu reîmprospătarea populaţiei de limfocite T sensibilizate specific. Aceste celule sensibilizate, la recontactul cu antigenele BCG eliberează noi cantităţi de factor activator al macrofagelor, care redobîndesc astfel eficienţa fagocitară crescută (Păunescu, 1980).

E. *Răspunsul imun în bolile infecţioase şi parazitoze*

Imunitatea antiinfecţioasă, instalată ca urmare a pătrunderii în organism a unui agent patogen, conferă gazdei o protecţie specifică împotriva reinfecţiei cuacelaşi microb. Reacţiile de răspuns imun dezvoltate în cadrul

imunităţii antiinfecţioase includ însă şi fenomene nocive, care fac parte din tabloul clinic al bolii respective şi care pot altera rezistenţa organismului la infecţie.

Tipurile de răspuns imun în infecţii sînt dependente de caracteristicile patogene ale agentului invadant. O bacterie toxigenă, spre exemplu, va induce în mod dominant anticorpi antitoxină; o bacterie piogenă va declanşa cu precădere formarea de anticorpi aglutinanţi şi va intensifica procesele de fagocitoză; bacteriile facultativ intracelulare vor dezvolta şi o stare de sensibilizare celulară; o serie de agenţi virali vor produce o „*anergie*" postinfecţioasă; numeroşi paraziţi vor declanşa şi hipersensibilitate etc. Sindromul infecţios şi evoluţia sa reprezintă în fapt suma efectelor rezultate din conflictul gazdă — parazit.

Răspunsul imun antiinfecţios include atît imunitatea dobîndită cît şi pe cea înnăscută.

Reacţiile nespecifice la infecţii cu agenţi patogeni cuprind factori constituţionali, ca specia, rasa, sexul, ereditatea şi vîrsta.

Printre factorii de rezistenţă nespecifică ai organismului gazdă trebuie subliniate: (*a*) barierele mecanice (ca tegumentele şi mucoasele intacte, umiditatea tractului respirator şi cilii căilor aeriene respiratorii principale); (*b*) barierele chimice (ca secreţiile mucoase, lizozimul din salivă, lacrimi, secreţii nazale, urină, aciditatea sucului gastric etc.); (*c*) capacitatea bactericidă a serului, datorită unor componenţi numai parţial identificaţi (de ex.: sistemul spermină-spermidină care acţionează asupra b. tuberculozei, obstinina bactericidă faţă de b. tific, β-lizinele active faţă de bacteriile Gram-pozitive, o serie de lipide cu acţiune bactericidă etc.); (*d*) anumiţi factori adjuvanţi nespecifici (cum este sistemul properdinic care contribuie la activarea sistemului complement, acesta — la rîndul său — participînd la procesele de liză celulară, conglutinare, imunoaderenţă, opsonizare, chimiotaxie); (*e*) o serie de monokine (printre care interferonul, enzime lizosomale), fagocitina Hirsch sau enzimele lizosomale ale polimorfonuclearelor, factorul Fishman (o lipoproteină mitocondrială activă asupra bacteriilor Gram-pozitive) etc.

În ceea ce priveşte rezistenţa specifică, se deosebesc cel puţin patru tipuri de procese prin care imunitatea antiinfecţioasă specifică poate deveni eficientă: (*a*) *imunitatea dobîndită natural*, care reprezintă rezultanta infecţiei naturale cu un agent patogen; (*b*) *imunitatea dobîndită indusă*, care reprezintă rezistenţa dobîndită după o vaccinare cu microorganisme vii sau omorîte; (*c*) *imunitatea pasivă naturală*, care se referă la imunitatea fătului sau nou născutului, dobîndită pasiv, de la mamă, prin anticorpi trecuţi transplacental, sau obţinuţi prin ingestia colostrului sau a laptelui; (*d*) *imunitatea pasivă indusă*, care se realizează prin inocularea de ser, celule imunocompetente sau extracte din acestea, provenite de la un donator imunizat.

În cadrul răspunsului imun faţă de agenţi patogeni, se pot deosebi trei categorii importante de procese, după tipul agentului invadant: virus, bacterie sau parazit.

1. *Răspunsul imun în infecțiile virale*

Procesele de răspuns imun în infecțiile virale pot prezenta aspecte variate, determinate atît de caracterele antigenelor virale, cît şi de echipamentele celular (macrofage, limfocite T şi limfocite B) şi umoral (anticorpi, complement, interferon şi unele leukine) puse în joc de organismul gazdă. O caracteristică particulară a infecţiilor virale o constituie faptul că aceşti agenţi patogeni se multiplică strict în celulele organismului gazdă, niciodată extracelular. În felul acesta, cum de regulă metabolismul celulei infectate este deviat pentru sinteza de noi particule virale, celulele infectate viral poartă produsele imunogene ale virionilor nou formaţi.

Infecţia virală este condiţionată de adsorbţia şi fixarea particulei pe membrana celulei gazdă, procese care antrenează o selectivitate particulară : un *anumit* virus infectează celule de un *anumit* tip, provenite de la o *anumită* specie animală. Celulele infectabile trebuie să prezinte receptori pentru virusul infectant ; receptorii celulari au structură glicoproteică şi sînt amplasaţi pe membrana de suprafaţă a celulei.

După fixarea selectivă, penetrarea virusului în celulă are loc prin *viropexie,* proces similar celui de pinocitoză. Penetrarea poate interesa particula virală integrală (cazul virusului vaccinal) sau numai acidul nucleic viral infectant (RNA, în cazul virusului sarcomului, leucemiei etc.).

Odată pătruns în celulă, virusul deturnează metabolismul celulei gazdă în favoarea sa, impunînd o nouă coordonare genică, aceea a genomului său. Ca urmare : (*a*) fie că se realizează integrarea informaţiei genetice virale în genomul celulei gazdă (prin hibridare „RNA viral-DNA celular nou format", după schema Temin-Baltimore) ; (*b*) fie că se realizează replicarea virusului. În acest ultim caz, sinteza de noi virioni se realizează prin intermediul unor proteine „timpurii", sintetizate ca urmare a pătrunderii virusului în celulă ; aceste proteine „timpurii" au acţiune inhibitorie asupra metabolismului normal al celulei, deturnîndu-l în vederea sintezei componentelor virale. Ulterior, celula poate declanşa sinteza unor alte proteine, „tardive", cu rol reglator, care au efect invers : blochează sinteza componentelor virale. Asemenea proteine reglatoare par să funcţioneze şi în infecţiile virale inaparente, în perioadele de remisiune, cum este cazul herpesului recurent.

Există mai multe căi de invazie virală, care duc la reacţia imună loco-regională, prin intermediul ganglionilor limfatici corespunzători. Astfel, mixovirusurile şi adenovirusurile afectează căile respiratorii superioare şi ganglionii limfatici aferenţi ; enterovirusurile interesează foliculii limfatici intestinali, plăcile Payer şi ganglionii mezenterici. Calea cutanată este abordată de numeroase virusuri : vaccinal, herpetic, rujeolos, variolic, varicelic ; iar calea mucoasei conjunctivale de trahom şi unele adenovirusuri. Transplacentar pot realiza infecţii virusul rubeolic şi cel citomegalic (care pot conduce la apariţia de anomalii congenitale).

Rolul anticorpilor în răspunsul imun antiviral este eficace numai în cazul anumitor infecţii virale (enterovirusuri, arbovirusuri), cu toate că apariţia de anticorpi neutralizanţi în serul organismelor infectate viral este un proces mult mai general. Protecţia prin anticorpi este rezultatul neutralizării particulei virale, care astfel nu se mai poate fixa pe recep-

torii celulari, nemairealizînd infecţia. Procesul de neutralizare este similar cu cel descris în cazul efectului antibacteriolitic al serului antifag, acesta din urmă blocînd posibilitatea bacteriofagului de a se fixa pe celula bacteriană sensibilă; în mod asemănător, serurile antitoxine bacteriene, neutralizînd toxina, împiedică fixarea acesteia pe receptorii celulei sensibile.

Neutralizarea virusului infectant mai poate fi realizată prin acţiunea combinată a anticorpilor şi complementului, aşa cum s-a demonstrat în cazul virionilor de herpes simplex şi rubeolei. În acest proces de neutralizare intervin mai multe mecanisme: (*a*) formarea de complexe anticorp—virion, care sînt stabilizate prin fixarea complementului; (*b*) liza învelişului viral; (*c*) intensificarea fagocitării complexelor de către polimorfonucleare, care — prin oprirea multiplicării virale—feresc de infectare celulele sensibile; (*d*) citoliza mediată prin complement a celulelor infectate, care prezintă antigenul viral la suprafaţa membranei.

Complexele anticorp — virus pot fi captate şi procesionate de microfage, care nu au capacitatea de a îngloba direct particula virală singură, fiind lipsite de receptori pentru fixarea virusurilor.

Există însă unele situaţii particulare în care nu numai că anticorpii antivirali nu pot realiza o neutralizare efectivă a virusului respectiv, dar chiar pot duce la reacţii nocive: complexele anticorp—virion pot fi recunoscute ca „non-self" de către organism, care produce anticorpi contra acestor complexe (anticorpi antiglobulinici). Acesta este motivul pentru care în mai multe infecţii virale se constată apariţia „factorului reumatoid" în sîngele circulant (v. cap. VII, D1).

Un alt efect nociv al complexelor anticorp — virion a fost observat în limfocoriomeningita virală murină, unde se instalează un sindrom de boală a complexelor imune, cu glomerulonefrită severă (v. cap. VII, D). Un mecanism similar a fost sugerat în cazul poliartritei nodoase asociată cu complexe imune ce conţin antigen Australia (cap. VIII, A) (Allison şi Virelizier, 1974). Unele afecţiuni virale, printre care infecţiile adenovirale transmise *in utero* sau la naştere, duc la formarea de complexe imune solubile, care pot inhiba funcţia limfocitului T, fără a afecta celula B, procesul avînd ca rezultat persistenţa infecţiei în absenţa manifestărilor clinice (Blanden, 1974).

Un alt mecanism nociv, legat de apariţia anticorpilor antivirali, este cel datorat anticorpilor fixatori de complement care, fixîndu-se pe celulele infectate, purtătoare de antigene virale, pot exercita un efect citotoxic, finalizat prin liza celulelor infectate.

Celulele infectate, purtătoare de antigen virale, pot lega şi anticorpi nefixatori de complement, situaţie în care devin ţinta celulelor nespecific „ucigaşe" (*celule K*).

În ceea ce priveşte rolul anticorpilor IgA secretaţi la nivelul mucoaselor, s-a constatat că aportul lor în prevenirea implantării virusurilor în mucoasa intestinală şi diseminarea lor în ţesuturile adiacente, este destul de redus.

În mai multe cazuri de infecţie virală, apariţia anticorpilor virali poate limita rezistenţa imună. Acesta este cazul infecţiilor cu mixovirusuri şi paramixovirusuri, care realizează numai o scurtă perioadă de expunere la antigen şi regenerarea rapidă a celulelor capabile să fixeze virusul,

sustrăgîndu-l astfel contactului cu celulele imunocompetente inițiatoare ale răspunsului imun. În plus, aceste virusuri, și în mod particular grupul A al mixovirusurilor, manifestă o variație accentuată a antigenelor specifice, ceea ce face ca anticorpii produși față de o variantă să nu mai fie efectivi față de o nouă variantă.

Rolul imunității mediată celular în infecțiile virale este bine precizat în cazul multor infecții virale. Spre exemplu, copii cu agamaglobulinemie, care prezintă infecții bacteriene curente și fac poliomielită paralizantă, reacționează perfect normal la virusul vaccinal, hepatita virală și pojar. Invers, bolnavii cu imunodeficiență a celulelor T (congenitală sau produsă prin tratament cu azatioprină) fac vaccină sistemică și sînt deosebit de sensibili la herpesul simplex, la pojar și la virusul citomegalic. Ectromelia, sau variola murină, este foarte gravă la șoarecii „nude"[36] sau la cei timectomizați la naștere, iar administrarea de celule T singenice la aceste animale poate restaura imunitatea antivirală. Tratamentul cu ser antilimfocitar (și deci distrugerea celulelor T) antrenează la șoarece infecții letale datorită unor virusuri care în mod normal nu dau moarte : herpesul simplex, febra galbenă, coksakie B3, ectromelia (Allison, 1974).

În absența celulelor T, organismul nu reacționează prin acumulare de *macrofage* în țesutul infectat viral. Este evident deci că limfocitul T sensibilizat, pus în prezența antigenului viral specific, eliberează factori chimiotactici și activatori pentru macrofage ; asemenea limfokine sînt eliberate în cantitate eficientă chiar și atunci cînd limfocitele T sensibilizate constituie numai 4—7% din infiltratul celular.

Limfocitul T cooperează de asemenea cu celula B pentru stimularea acesteia la producerea de anticorpi ; deci, ca și în cazul cooperării cu macrofagul, este necesar ca limfocitul T să recunoască antigenele MHC ale partenerului pentru a putea avea loc interacțiunea celulară.

O intervenție similară a specificității antigenelor MHC de suprafață este determinantă și în cazul acțiunii limfocitului T citotoxic acesta nu poate produce liza celulei infectate decît dacă recunoaște atît antigenele specific virale purtate de celula infectată cît și specificitățile MHC ale acesteia (v. cap. II, A).

Stimularea limfocitului T sensibilizat fie prin antigenele virale corespunzătoare, fie prin mitogeni nespecifici (PHA, Con A) are ca rezultat producerea de interferon. Această proteină neimunoglobulinică antivirală este secretată simultan și de macrofagele activate prin intermediul limfocitului T.

Interferonul este un factor antiviral nespecific, activ asupra celor mai multe virusuri, așa cum rezultă din faptul că inocularea unui virus inactivat (prin căldură sau radiații u.v.) conduce la apariția rezistenței nu numai față de infecția cu același virus viu, ci și față de infecții cu alte virusuri vii, patogene.

Mecanismul de acțiune al interferonului nu este de tip imun, ci metabolic ; interferonul contribuie însă la reglarea imunității.

[36] Congenital atimici.

Sinteza interferonului are loc sub acţiunea RNA viral care stimulează genomul celulei gazdă (cromosomul 5 în cazul speciei umane) să producă un RNA-mesager ce codifică sinteza interferonului. Odată sintetizat, interferonul este eliberat în mediul extracelular unde, dacă întîlneşte o celulă cu situs receptor pentru interferon (coordonat de cromosomul 21), este admis intracelular. În noua celulă, interferonul provoacă stimularea aceluiaşi cromosom 5, care de această dată declanşează sinteza unui RNA-mesager ce controlează producerea unei proteine complementară pentru RNA-viral, cu efect antiviral. Această proteină antivirală nu împiedică pătrunderea în celulă a virusului infectant, dar blochează sinteza de RNA-viral de către celula gazdă, oprind practic sinteza de noi virioni.

Mecanismele imune în infecţia virală sînt schematizate în fig. 16.

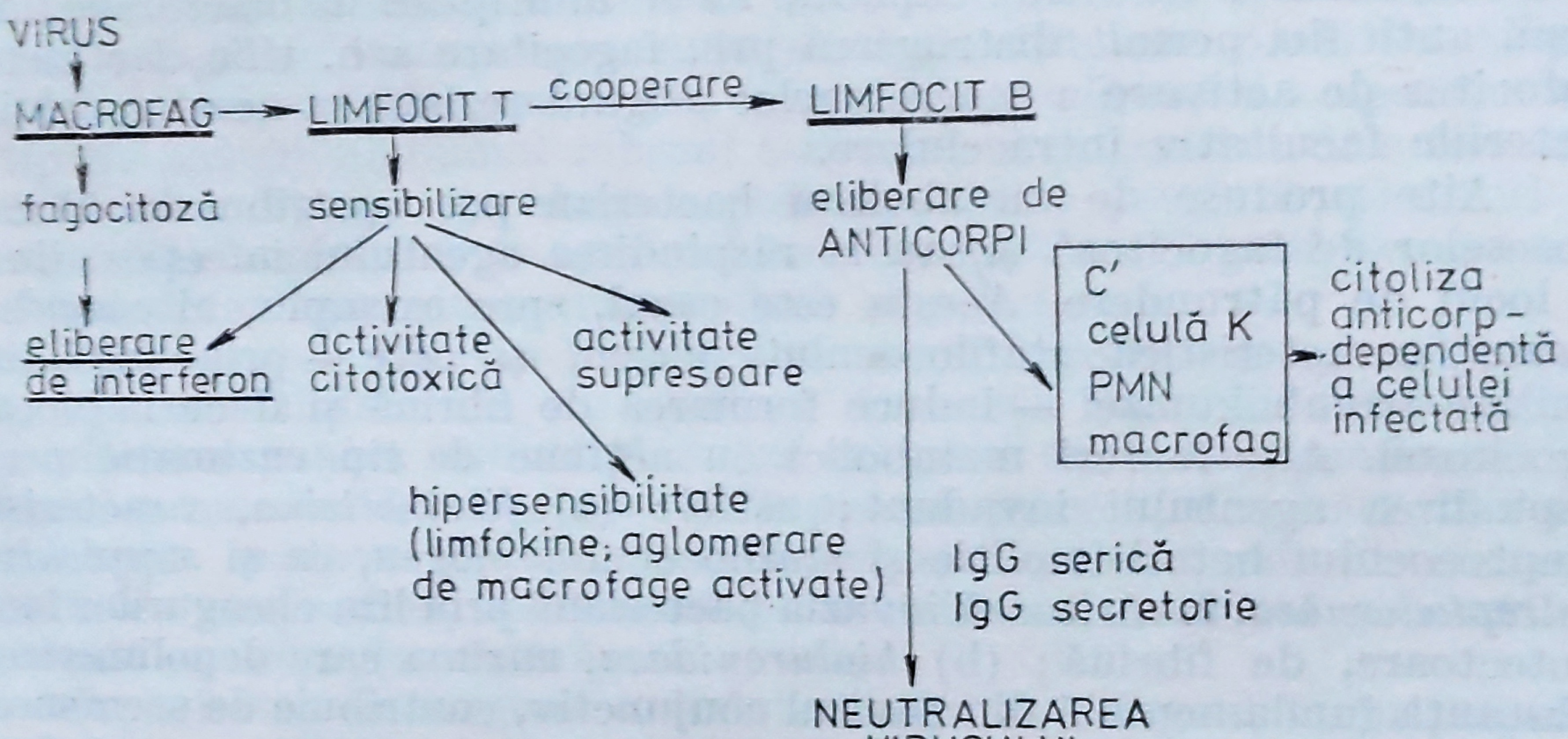


Fig. 16. — Mecanismele imune în infecţiile virale.

Rezumativ, particula virală infectată este preluată de macrofag şi prezentată limfocitului T, care: (*a*) pe de o parte cooperează cu limfocitul B stimulînd producerea de anticorpi, specifici, neutralizanţi pentru enterovirusuri şi arbovirusuri; (*b*) pe de altă parte induce imunitate mediată celular, care este efectivă în cazul virusurilor varicelei, a celor herpetice şi a multor mixo- şi paramixovirusuri. Celula T sensibilizată activează monocitele, împreună cu care secretă interferon, proteina antivirală. Fenomenele de citoliză sînt fie rezultatul acţiunii limfocitului T citotoxic, fie al anticorpilor în colaborare cu sistemul complement, cu fagocitele sau cu celulele „ucigaşe" (K) nespecific, care acţionează asupra celulelor ţintă învelite în anticorpi antivirali.

2. *Răspunsul imun în infecţiile bacteriene*

Ca şi în cazul infecţiilor virale, pătrunderea unei bacterii în ţesuturi declanşează un proces inflamator în care fagocitele — atît micro- cît şi macrofagele — preiau materialul infectant şi îl degradează, punînd în libertate

antigenele celulei bacteriene. Procesul inflamator rezultat poate realiza localizarea infecţiei şi iniţierea proceselor de răspuns imun.

Înglobarea bacteriilor de către fagocite este facilitată de *opsonine* naturale sau de anticorpi specifici. Unele specii bacteriene — aşa-numite „virulente" — secretă un înveliş capsular care împiedică acţiunea opsonizantă şi, deci, înglobarea în fagocit a celulei bacteriene. Acesta este cazul pneumococului, bacteriei cărbunoase, bacilului megaterium etc. Anticorpii anticapsulari neutralizează efectul inhibitor al capsulei asupra procesului de opsonizare, ceea ce are drept rezultat înglobarea şi fagocitarea respectivelor celule bacteriene.

Alte bacterii posedă caractere metabolice particulare, care le asigură o rezistenţă la fagocitoză. Unele dintre ele, cum este b. tific, după endocitare în fagocit sînt în continuare capabile să se multiplice, distrugînd în final polimorfonuclearul fagocitant. Un exemplar similar îl constituie bacilul tuberculozei, cel al brucelozei, al listeriozei şi alte bacterii facultativ intracelulare, care sînt capabile să se multiplice în macrofage. Anticorpii antitifici permit distrugerea prin fagocitare a b. tific, iar factorul limfocitar de activare a macrofagelor asigură rezistenţa acestor celule la bacteriile facultativ intracelulare.

Alte produse de metabolism bacterian pot contribui la blocarea proceselor de fagocitoză şi/sau la răspîndirea agentului infecţios dincolo de locul de pătrundere. Acesta este cazul, spre exemplu, al *coagulazei*, enzimă caracteristică stafilococului piogen, şi care — prin mecanisme similare trombokinazei — induce formarea de fibrină şi duce la blocarea fagocitozei. Alţi factori metabolici cu acţiune de tip enzimatic permit răspîndirea agentului invadant; astfel: (a) *fibrinolizina*, caracteristică streptococului beta-hemolitic şi stafilococului piogen, ca şi *streptokinaza* şi *streptodornaza*, favorizează invazia bacteriană prin liza cheagurilor locale, protectoare, de fibrină; (b) *hialuronidaza*, enzima care depolimerizează substanţa fundamentală din ţesutul conjunctiv, contribuie de asemenea la răspîndirea infecţiei; (c) factorii ce favorizează gangrena gazoasă (genul *Clostridium*) au de asemenea o acţiune enzimatică hidrolazică variată: proteinaze, lecitinaze, colagenaze, amidaze.

Anticorpii specifici realizează neutralizarea activităţii acestor „factori de invazie" sau/şi „de virulenţă".

Antigenele bacteriene. În afara factorilor de virulenţă amintiţi, o altă categorie de substanţe imunogene secretate de celula bacteriană sînt exotoxinele.

Exotoxinele bacteriene sînt produse de metabolism ale unor bacterii, care sînt secretate în ţesuturi, unde sînt fixate de receptori specifici de pe anumite celule, pentru care sînt toxice (Mesrobeanu şi Păunescu, 1968; 1975).

Dintre bacterii, mai multe genuri Gram-pozitive sînt capabile să elaboreze exotoxine: b. difteric, genul *Clostridium*, stafilococii, streptococii etc. (Mesrobeanu şi Păunescu, 1968).

Exotoxinele bacteriene sînt imunogene; ele induc formarea de anticorpi neutralizanţi şi au caractere distincte de cele ale „endotoxinelor".

Endotoxinele bacteriilor Gram-negative, cunoscute sub numele de „antigene Boivin-Mesrobeanu", sînt antigene somatice complete comune tuturor acestor bacterii. Ele sînt complexe macromoleculare, formate din

fosfolipide, polizaharide și peptide, fiind localizate în peretele celular al bacteriilor Gram-negative.

Prin metoda originală Boivin-Mesrobeanu, cu acid tricloracetic, de obținere a endotoxinelor, se obțin structuri complete, glucido-lipido-polipeptice. Prin alte metode, s-au extras preparate lipsite de fracțiunea peptidică, așa-numitele *lipopolizaharide*. Acestea păstrează cea mai mare parte a proprietăților biologice ale endotoxinei originale : toxicitatea, specificitatea, pirogenitatatea, termostabilitatea.

Specificitatea antigenică a endotoxinelor Boivin-Mesrobeanu este asigurată de haptena polizaharidică. Acest polizaharid are o structură dublă : (*a*) una de bază, invariabilă, prezentă atît la formele *rough* cît și la cele *smooth* ale bacteriilor ; această structură constituie așa-numitul chemotip I și conține un set constant de cinci zaharuri : D-glucozamină, L-glicero-D-manoză, D-galactoză, D-glucoză și 2-ceto-D-dezoxioctonat ; (*b*) a doua structură, prezentă numai la variantele *smooth*, conferă specificitatea de tip a celulei bacteriene și conține : manoză, fucoză, riboză, ramnoză, D-galactozamină și o nouă clasă de zaharuri, 3,6-didezoxihexozele (abecvoză, colitoză, paratoză, tiveloză, ascariloză). La specificitatea de tip nu contribuie numai zaharul terminal, ci oligozaharidele terminale în întregime. Partea variabilă a polizaharidului prezintă structuri oligozaharidice repetitive (v. tabelul nr. 3), ceea ce îi conferă moleculei calitatea de antigen timus-independent și policlonal.

Endotoxinele Boivin-Mesrobeanu sînt imunogene și adjuvante, dau hipersensibilitate de tip Arthus și reacții Sanarelli-Schwartzman, sînt mitogene pentru limfocitul B (ca antigene timus-independente), sînt pirogeni și manifestă toxicitate letală pentru șoarece, dau necroză renală și resorbția măduvei osoase, stimulează sistemul reticulo-histiocitar și imunitatea nespecifică, se fixează pe membrana eucariotă și manifestă activitate anticomplementară.

Capacitatea imunogenă a endotoxinelor este legată în principal de fracțiunea peptidică, așa cum rezultă din faptul că lipopolizaharidul corespunzător (lipsit de peptid) este de 10—200 ori mai puțin imunogen decît endotoxina completă.

Capacitatea adjuvantă a endotoxinei trebuie corelată cu prezența lipidului A, fracțiune fosfolipidică greu hidrolizabilă și puternic legată de componenta polizaharidică.

Termostabilitatea moleculei de endotoxină este de asemenea corelabilă cu fracțiunea lipopolizaharidică, așa cum rezultă din faptul că fracțiunea lipopeptidică a endotoxinei de la bacilul Shiga (cunoscută și sub numele de „neurotoxina Mesrobeanu") este termolabilă.

Acizii lipoteichoici constituie endotoxinele bacteriilor Gram-pozitive. Ei sînt complexe lipidice ale acizilor teihoici[37]. Acizii lipoteichoici se găsesc practic la toate bacteriile Gram-pozitive și prezența lor nu este influențată de compoziția mediului de cultură. Structura lor este de polimeri de glicerofosfat, legați covalent cu glicolipide (ca la genul *Lactobacillus*) sau cu un fosfatidil-glicolipid (ca la *Streptococcus faecalis*). Moleculele rezultate sînt amfipatice (prezintă regiuni atît polare, cît și hidro-

[37] Acizii teichoici sînt polimeri de ribitol-glicozilat sau de glicerofosfat, care poartă reziduuri esterice de D-alanină ; ei sînt legați covalent de peptidoglicani din peretele celular bacterian.

fobe), ceea ce explică o serie de parametri fizici și biologici : localizarea lor în celulă, mobilitatea accentuată și rolul lor patogenic.

Acizii lipoteichoici sînt componenți ai membranei citoplasmatice, însă partea lipidică a moleculei lor penetrează dublul strat fosfolipidic al membranei celulare și ajunge pînă la suprafața celulei. În anumite condiții, cum sînt cele din cursul diviziunii celulare și al lizei celulare, bacteriile Gram-pozitive pot elibera în mediul ambiant acizi lipoteichoici.

Aceste substanțe sînt imunogeni activi : pot stimula producerea de anticorpi IgM și IgG. În cazul acidului lipoteichoic izolat din *Str. pyogenes* s-a descris un efect imunosupresor pe care îl exercită asupra răspunsului anticorpic al șoarecelui față de eritrocitele de oaie.

Ca și endotoxinele bacteriilor Gram-negative, acizii lipoteichoici nu sînt numai imunogeni, dar pot produce reacții de tip Schwartzmann, necroză renală, hipersensibilitate mediată prin anticorpi, resorbția măduvei osoase, stimularea sistemului reticulo-histiocitar și a rezistenței nespecifice, se fixează pe membrana eucariotă și au activitate anticomplementară. Spre deosebire de lipopolizaharide, acizii lipoteichoici nu sînt însă pirogeni nu manifestă toxicitate letală pentru șoarece și nu sînt mitogeni direcți pentru celula B.

Mecanismele imune în infecțiile bacteriene prezintă unele caracteristici particulare, în funcție de proprietățile specifice ale agentului infecțios. Astfel, spre exemplu, bacteriile piogene, al căror conflict cu organismul gazdă este dominant de tip inflamator, rămîn de obicei cantonate la locul de pătrundere, unde se dezvoltă un factor infecțios localizat, generat de intervenția fagocitelor. Procesele septicemice, în aceste condiții, sînt de obicei limitate ca urmare a producerii de anticorpi specifici opsonizanți, aglutinanți, bacteriolitici și neutralizanți pentru diferitele antigene bacteriene eliberate. Complexele antigen — anticorp formate sînt de obicei degradate de polimorfonucleare. În infecțiile trenante de acest tip se instalează și o stare de hipersensibilitate mediată prin anticorpi, în care procese de tip anafilactic, liberatoare de mediatori histaminici, sînt intricate cu fenomene de tip Arthus, inițiate de complexe antigen — anticorp precipitante.

Alte bacterii (b. difteric, streptococi, clostridiile) sînt de asemenea localizate la poarta de pătrundere, unde însă nu dezvoltă un focar inflamator tipic piogen, ci acționează asupra întregului organism prin eliberare de toxine. În aceste cazuri, producerea de anticorpi neutralizanți față de exotoxinele respective poate rezolva conflictul gazdă — parazit în favoarea macroorganismului. Imunitatea mediată celular nu deține un rol important în infecțiile toxigene.

În infecțiile cu bacterii Gram-negative, antigenul endotoxină este timus-independent și poate stimula direct limfocitele B, transformîndu-le în celule producătoare de anticorpi. În aceste condiții, titrul anticorpilor circulanți crește repede. Enterobacteriaceele sînt însă adesea ciliate și, în consecință, devine necesară și dezvoltarea de anticorpi anti-flagelari (antigene Vi). În asemenea infecții există și o imunitate mediată celular care contribuie la instalarea rezistenței (Păunescu, 1980).

Imunitatea mediată celular se dezvoltă în mod predominant în infecțiile cu bacterii facultativ intracelulare (b. tuberculozei, b. brucelo-

zei, *Listeria*, tularemia etc.), în care cazuri rezistența este efectivă prin intermediul macrofagelor stimulate prin mecanisme de hipersensibilitate întîrziată (v. cap. III, D).

Rezistența bacteriană mediată celular se traduce printr-o recrutare preferențială de macrofage la locul infecției și prin liberarea de mediatori solubili de către limfocitul T imun, ca răspuns la sensibilizarea specifică după contactul cu antigenul. În contact cu limfokinele, macrofagul suferă o activare, care se manifestă printr-o capacitate bactericidă crescută față de toate bacteriile cu localizare intramacrofagică. Acțiunea bactericidă a macrofagelor activate este însă numai parțial nespecifică, așa cum rezultă din faptul că activitatea bactericidă este mai eficientă față de bacteria care a provocat sensibilizarea, iar reinducerea rezistenței imune mediată celular nu poate fi realizată decît cu bacteria care a declanșat prima sensibilizare (Mackaness, 1969).

Activarea macrofagelor prin celule T specifice de specie coincide și cu o creștere a răspunsului umoral specific , iar anticorpii specifici amplifică activitatea fagocitară îndreptată împotriva anumitor bacterii (salmonele, brucele etc.).

Răspunsurile imune ce sînt inițiate ca urmare a pătrunderii unor bacterii într-un organism viu duc de obicei la distrugerea agentului patogen, rezolvînd infecția și realizînd o stare de rezistență dobîndită, specifică față de bacteria invadantă. În unele cazuri, însă, reacțiile de răspuns imun nu sînt limitate la acțiuni în favoarea organismului gazdă, ci ele pot declanșa manifestări patologice tardive, care pot continua să evolueze și după eliminarea infecției. Acesta este cazul proceselor denumite în sens larg ca „alergii" și care cuprind reacții anafilactice, manifestări de tipul bolii serului, reacții Arthus, reacții de hipersensibilitate tardivă și sindroame autoimune.

3. *Răspunsul imun în parazitoze*

Imunitatea în parazitoze ridică probleme foarte variate. Protozoarele și metazoarele ce parazitează organismele superioare prezintă în general cicluri complexe de evoluție, în fiecare fază dezvoltîndu-se organe și organite individualizate, cu structuri și potențiale antigenice diferite. Între parazit și organismul gazdă au loc de obicei schimburi metabolice numeroase, ceea ce complică încă mai mult procesele de răspuns imun.

În multe cazuri se observă, în parazitoze, o stare de toleranță imunologică din partea gazdei, la care contribuie în primul rînd : (*a*) aportul masiv de antigene din partea parazitului (rezultat din schimburile metabolice continui și din ciclurile evolutive complexe); acest aport masiv de antigene duce rapid la toleranță imună prin doze mari de antigen (v. cap. III, H); (*b*) localizarea deosebită a unor paraziți în organism (intestinal, ca în cazul ascarizilor, teniilor etc.; intracelular, ca în cazul plasmodiilor, unde celula gazdă nu prezintă la suprafață antigene specifice parazitului); multe asemenea localizări feresc parazitul de contactul direct cu efectorii imuni. În asemenea condiții devine explicabilă absența oricărui răspuns imun în unele parazitoze, cum sînt infestările cu tripanozome africane (*Trypanosoma gambiense* sau *rhodensie*) ori americane

(*Trypanosoma crusi*), cum este cazul în meningoencefalita amebiană, în leishmaniozele viscerale, în amebiază, în unele boli nematodice (ankilostomiaza) etc.

Într-o serie de alte infestări parazitare are loc dezvoltarea unor răspunsuri imune, fie prin anticorpi, fie mediate celular.

După eficiența lor, aceste tipuri de imunitate pot fi grupate în : *imunitate nesterilizantă* și *imunitate sterilizantă*. În ambele categorii, imunitatea dezvoltată este specifică de specie și chiar, uneori, specifică de stadiu (de ex. : malaria, tripanozomiaze). Aceasta denotă că, în diferite stadii de dezvoltare a parazitului pot interveni mecanisme imune v ariate.

Imunitatea nesterilizantă, evidentă în mai multe infestări parazitare, corespunde unui răspuns imun ce nu poate realiza eliminarea agentului parazitar din organism. În asemenea cazuri, organismul gazdă prezintă însă o stare de rezistență particulară (*premuniție*) prin care este refractar la o altă reinfestare cu același parazit și, de asemenea, exercită un control cantitativ asupra amplorii dezvoltării parazitului cu care este infestat. Un astfel de răspuns imun este caracteristic pentru cele mai multe infestări helmintice și a fost descris și în schizostomiaze. Fenomenul de „premuniție" a fost observat prima oară la protozoare : malaria umană și simiană, babeșioze, toxoplasmoze etc.

Imunitatea sterilizantă este singura care asigură o reală rezistență a organismului gazdă, fiind însoțită de eliminarea parazitului și de o prelungită rezistență la reinfecția omoloagă. Acest tip de imunitate a fost descris în leishmaniozele umane cutanate, în tripanozomiaza rozătoarelor și în dictiocauloza pulmonară a bovideelor.

Aspectele diverse ale răspunsului imun în parazitoze sînt rezultatul a trei factori principali : antigenicitatea parazitului, natura mecanismelor efectoare și posibilitatea ca parazitul să-și modifice structura.

Exemplele în acest sens sînt numeroase și printre ele pot fi citate următoarele :

a) În *paludism* au fost puși în evidență anticorpi specifici în perioada cînd sporozoiții se transformă în schizonți extraeritrocitari la nivelul ficatului, etapă urmată de ruperea schizonților și eliberarea merozoiților în circulația periferică. Acest moment coincide cu apariția de forme parazitare extracelularizate și astfel accesibile receptorilor imunologici. Totodată, în acest stadiu de dezvoltare a parazitului, membrana celulei eritrocitare gazdă prezentînd o permeabilizare importantă, este posibil ca și anticorpii (de tip IgG) să vină în contact cu parazitul. Nu este cunoscut rolul imunității mediată celular în malarie, dar s-a constatat experimental că, în absența limfocitelor T (timectomie la naștere sau administrare de ser imun anti-theta), are loc o creștere semnificativă a mortalității printre animalele infestate cu *Plasmodium berghei*.

b) În *tripanozomiază*, parazitemia este controlată prin anticorpi citolitici fixatori de complement. În această boală, însă, parazitul își poate modifica structura antigenică de suprafață de la o generație la alta, astfel că rezistența imună devine ineficientă (rămîne funcțională numai rezistența nespecifică, prin factori naturali).

c) În *schizostomiază* parazitul poate persista îndelung în organismul infestat. Maturarea schizostomiilor este blocată de anticorpi specifici,

dar — prin maturare — formele adulte pot dobîndi la suprafață determinanți antigenici similari cu ai altor celule ale gazdei, care astfel nu-i mai poate identifica drept „non-self".

d) În *leishmanioză*, anticorpii produși sînt fixatori de complement și, la rîndul lor, prin fragmentul Fc se pot fixa pe macrofage, iar prin situsurile de combinare pot recunoaște și lega parazitul, provocînd citoliza acestuia.

e) În *toxoplasmoză*, studiile întreprinse la șoarece au evidențiat apariția de anticorpi specifici, care pot limita infecția. De asemenea, s-a demonstrat o acțiune litică a macrofagelor activate față de parazit.

f) În *helmintiază*, inducerea răspunsului imun sau sensibilitatea agentului infestant la un astfel de proces variază considerabil în cursul de viață al parazitului. De obicei procesele imune sînt alterate într-un stadiu particular al dezvoltării, care definește imunitatea specifică de stadiu. În cele mai multe cazuri, forma adultă a helmintului reprezintă stimulul major pentru răspunsul imun. Odată imunitatea instalată, ea se manifestă împotriva tuturor formelor invadante. Concomitent, însă, o anumită categorie de metaboliți eliberați de parazit constituie antigene de tip „reaginic" pentru organismul gazdă, care dezvoltă anticorpi specifici IgE. Se pot declanșa astfel fenomene anafilactice cu diverse grade de intensitate, pe seama eozinofilelor sensibilizate cu anticorpii specifici.

Răspunsul imun în parazitoze apare deci complex și mult diversificat, prin procese variate și adeseori subtile. O expunere detaliată a acestor diverse forme de răspuns imun este deci dificilă, în special datorită imposibilității de sistematizare și a cunoștințelor încă insuficiente în acest domeniu.

■

Bolile infecțioase de origine virală sau bacteriană, și în mai mică măsură parazitozele, dezvoltă răspunsuri imune care în general sînt favorabile gazdei, asigurîndu-i rezistența specifică la o nouă infecție cu același germen. O protecție specifică similară poate fi obținută prin imunizare activă sau pasivă, realizată cu vaccinuri, respectiv cu seruri imune specifice. Aceste acțiuni *imunoprofilactice* sau *imunoterapice* sînt practicate astăzi pe scară largă, în acțiuni de mase, folosind produse biologice corespunzătoare (anticorpi purificați pentru seroterapie; vaccinuri vii sau omorîte, purificate și adsorbite pe adjuvanți, mono- sau polivalente etc.). Imunoprofilaxia prin vaccinuri adecvate a permis eradicarea multor boli infecto-contagioase, care în trecut au provocat epidemii masive, ce au decimat populații întregi din variate zone ale globului.

F. *Răspunsul imun în transplantare*

Transplantarea[38)] de celule, țesuturi sau organe de la un individ la altul este limitată de tipul de antigene de histocompatibilitate pe care le

---

[38)] Termenul de „transplantare" este adesea rezervat pentru grefele de organe, care implică anastomoze vasculare. Pentru celule și țesuturi transplantate se utilizează de obicei termenul de „grefă".

poartă grefonul și primitorul de grefă. Cînd donatorul și receptorul nu sînt identici genetic (v. cap. I, E), are loc respingerea (rejecția) grefei pe cale imunologică. Răspunsul imun în aceste cazuri implică atît participarea limfocitelor T (reacții citotoxice și de proliferare în culturi limfocitare amestecate), cît și procese mediate prin anticorpi.

În funcție de asemănările dintre caracterele de histocompatibilitate ale donatorului și primitorului de grefă, se pot defini patru categorii importante de grefe:

a) *autogrefele*, situație rezultată în cazurile cînd grefa se practică la același individ care donează grefonul;

b) grefă *singenică*, în care caz donatorul și primitorul sînt gemeni homozigoți, deci identici genetic (termenul sinonim de „izogrefă" nu mai este recomandat);

c) *alogrefă* (grefă alogenică), în care caz donatorul și primitorul nu sînt identici genetic, dar aparțin aceleiași specii (termenul sinonim de „homogrefă" nu mai este recomandat);

d) *xenogrefă* (grefă xenogenică) în care caz donatorul și primitorul aparțin unor specii diferite (termenul sinonim de „heterogrefă" nu mai este recomandat).

Procesele de răspuns imun în transplantare prezintă unele aspecte morfologice particulare, care reprezintă expresia fenomenelor imunologice ce conduc la respingerea grefei.

În primele 2—3 zile de la transplantare (grefă alogenică de piele), se poate observa vascularizarea normală a țesutului. Din zilele 4—5, însă, alogrefa (de piele sau de organ) începe să se infiltreze cu celule mononucleare, care includ celule limfoide transformate blastic, a căror citoplasmă este burată de poliribosomi. Infiltratul mononuclear este situat în special în ariile perivasculare. Cam în ziua a șaptea, alogrefa de piele se subțiază și încep fenomene de necroză; în mod corespunzător, organul grefat prezintă anomalii funcționale și modificări histologice importante. În 3—4 zile urmează respingerea grefei.

Dacă diferențele de histocompatibilitate între donator și primitor sînt mici, procesele menționate sînt mult mai lente, putînd dura cîteva luni; se apreciază fenomenul ca un proces de *rejecție cronică*. O prelungire similară în timp se poate observa și ca urmare a utilizării tratamentului imunosupresiv, în care cazuri adesea complicația cea mai importantă devine infecția supraadăugată.

Dacă la cîteva săptămîni sau luni de la rejecția unei grefe se practică o nouă transplantare, a doua respingere („*rejecție secundară*") are loc în mod accelerat sau chiar hiperacut. Trebuie desigur amintit că fenomenul de rejecție accelerată are loc numai atunci cînd și cea de-a doua grefă provine de la același donator, sau de la un donator care are antigene de histocompatibilitate identice sau foarte asemănătoare cu ale primului. Rejecția secundară se manifestă rapid după instalarea vascularizării la nivelul grefonului. Dacă vascularizarea nu se dezvoltă (așa-numitele „grefe albe"), atunci rejecția secundară are loc dominant prin imunitatea mediată prin anticorpi (cazul xenogrefelor).

În ganglionii limfatici regionali ai zonei de grefare se observă o serie de transformări: creșterea dimensiunilor, lărgirea ariilor paracorticale,

apariţia de limfoblaşti numeroşi încă la 2—3 zile de la grefare. Numeroşi limfoblaşti apar apoi şi în canalele limfatice şi circulaţia sanguină.

În cadrul răspunsului imun de transplantare, un rol particular revine *limfocitelor T*, care declanşează procesele de imunitate mediată celular. Prima reacţie imunitară ce apare este citoliza celulelor grefei prin intermediul limfocitelor T citotoxice, prezente în sîngele şi ganglionii limfatici regionali încă din ziua a patra de la grefare. Această limfocitotoxicitate este specific îndreptată contra ţesuturilor donatorului de grefă şi ea creşte în intensitate pînă în momentul eliminării grefei.

Procesele de limfocitotoxicitate se dezvoltă pe un fond de hipersensibilitate întîrziată, demonstrabilă şi prin faptul că migrarea leucocitelor primitorului este oprită în prezenţa celulelor (sau extractelor celulare) de la donator. De asemenea, numeroase limfocite circulante prelevate de la primitor au capacitatea de a se multiplica în prezenţa limfocitelor de la donator (în prealabil tratate cu mitomicină sau iradiate pentru a nu se mai divide); fenomenul este echivalent cu o reacţie accelerată de culturi limfocitare mixte (MLC)[39)].

După circa 10 zile de la grefare, în ser se pot pune în evidenţă anticorpi specifici antigrefon, avînd caractere biologice diferenţiate: *anticorpi citotoxici*, care induc liza celulelor donatorului în prezenţa complementului; *anticorpi aglutinanţi* pentru leucocitele şi hematiile donatorului; *anticorpi blocanţi* activi asupra efectelor de limfocitotoxicitate, de inhibiţie a migrării leucocitare, de stimulare a reacţiilor din culturi limfocitare mixte. Spre deosebire de anticorpii citotoxici, care apar imediat înaintea respingerii grefei, anticorpii blocaţi pot fi puşi în evidenţă şi în cazul grefelor bine tolerate. Un alt tip de anticorpi, aşa-numiţii *anticorpi limfocito-dependenţi*, aparţinînd clasei IgG, se fixează pe celulele donatorului şi le sensibilizează faţă de celulele K (v. mai departe).

Mecanismele imune mediate celular care au o participare dominantă în imunitatea de transplantare sînt: răspunsul proliferativ al celulei T la antigenele de histocompatibilitate şi citoliza imună mediată celular. Aceste fenomene au putut fi reproduse şi *in vitro*, în culturi limfocitare în amestec şi în teste de limfocitotoxicitate.

Culturile limfocitare în amestec (MLC) realizează prin cultivarea împreună a limfocitelor provenite de la două organisme genetic diferite; ca urmare a recunoaşterii celulelor străine ca „non-self", limfocitele manifestă transformare blastică şi proliferare, procese care pot fi estimate cantitativ prin numărarea blaştilor sau, mai precis, prin măsurarea timidinei radiomarcată încorporată în DNA în cursul proliferării (Păunescu, 1975).

Răspunsul proliferativ poate fi bidirecţional (ambele tipuri de limfocite reacţionează) sau unidirecţional (dacă se realizează inactivarea uneia din cele două suspensii limfocitare, de ex. prin pretratare cu mitomicină sau iradiere).

MLC sînt în esenţă reacţii primare. Sensibilizarea prealabilă a organismului donator cu celule limfoide de la receptor (Păunescu şi colab., 1978) produce o modificare trecătoare a reacţiei, constînd dintr-o cinetică accelerată şi o amplificare a răspunsului proliferativ în MLC.

În reacţiile de tip MLC, celulele care răspund sînt limfocite T, aşa cum rezultă din faptul că prezenţa serului imun antitheta opreşte dez-

[39)] MLC — prescurtare de la engl. *mixed lymphocyte culture*.

voltarea reacției; de asemenea, leucocitele provenite de la organism atimice (aplazie congenitală, timectomie neonatală etc.) nu răspund în MLC.

Prezența macrofagelor este indispensabilă pentru inițierea răspunsului în MLC (Păunescu, 1975).

Unele proliferări ale limfocitelor B observate în MLC (cu ajutorul, markerilor cromosomali) sînt considerate rezultat al unei *recrutări* secundare ca urmare a eliberării de *factori blastogeni* (mitogeni) de către limfocitul T stimulat.

Limfocitele B participă direct la reacțiile imune de tip MLC în calitate de celule stimulatoare ale limfocitelor T ce răspund proliferativ. Funcție stimulatoare pot îndeplini limfocitele T alogenice sau alte celule eterogene (monocite, fibroblaști, celule epiteliale etc.). Cei mai puternici stimulatori rămîn însă limfocitele B alogene. Pentru a realiza stimularea, este necesar ca celula stimulatorie să fie vie (chiar dacă nu mai este capabilă de multiplicare); celulele moarte sau extractele celulare nu stimulează MLC. Antigenele MHC de pe suprafața limfocitului B, care sînt capabile să stimuleze MLC, sînt așa-numitele *antigene DL* (definite limfocitar) și ele trebuie distinse de *antigenele DS* (definite serologic), care inițiază producerea de anticorpi anti-MHC (v. cap. I, E).

Răspunsul imun în MLC nu este limitat la proliferarea limfocitelor T stimulate, ci implică de asemenea producerea de limfokine (dintre care factorul de inhibiție a migrării macrofagelor și/sau leucocitelor, a fost bine studiat). În cursul reacțiilor de tip MLC se diferențiază și limfocite T citotoxice, care recunosc antigenele DS și sînt capabile să provoace citoliza celulelor donatorului.

Testele de limfocitotoxicitate folosesc de obicei măsurarea liberării $^{51}CrO_4Na_2$ de către celula-țintă în prealabil marcată și apoi pusă în prezența celulei citotoxice (complementul fiind absent în sistemul de reacție.

Citoliza imună mediată prin celule și independentă de complement poate fi provocată de 3 tipuri de celule:

a) *Limfocitul T citotoxic.* Originea timică a acestei celule rezultă din numeroase observații care au revelat că: (*1*) timectomia neonatală previne atît rejecția grefelor cît și apariția de limfocite citotoxice; (*2*) administrarea de ser imun anti-theta împiedică de asemenea atît eliminarea grefelor cît și dezvoltarea de limfocite citotoxice pentru celulele donatorului de grefă; (*3*) eliminarea limfocitelor B (trecere prin coloană de bile învelite cu anticorpi anti-Ig) și/sau a macrofagelor (trecere pe fibre aderente) dintr-o suspensie de limfocite mărește proporția de limfocite citotoxice; (*4*) maturarea limfocitelor citotoxice este strict dependentă de timus.

Limfocitele T citotoxice apar *in vitro* în culturi de limfocite mixte și *in vivo* după inoculare de celule alogene sau după grefarea de țesuturi (organe) alogene ori tumorale. Apariția lor poate fi pusă în evidență la 6 zile după efectuarea unei grefe de piele sau de tumoră, iar numărul maxim al acestor celule poate fi decelat în intervalul de la 9 la 16 zile de la grefare. În cazul unui răspuns secundar la grefă, numărul maxim de celule T citotoxice apare foarte timpuriu (la 6 zile și chiar mai devreme).

Activitatea celulelor T citolitice nu este influențată de prezența (sau absența) macrofagelor, limfocitelor B sau a altor celule.

Mecanismele citotoxicității prin celule T implică trei etape : contactul dintre celula efectoare și celula-țintă, desfășurarea activității citotoxice, moartea celulei-țintă. Realizarea *contactului dintre celula efectoare și celula-țintă* este rezultatul unor interacțiuni specific imune, între receptorii pentru antigen ai celulei T citotoxice și structurile complementare ale determinanților antigenici de pe suprafața celulei-țintă. Legarea celor două celule prin receptorii și determinanții antigenici respectivi nu este suficientă pentru a *declanșa activitatea citolitică*; în acest scop mai este necesar ca limfocitul T citotoxic să recunoască structurile MHC ale celulei—țintă, adică *celula efectoare și celula-țintă trebuie să aibă determinanți aloantigenici comuni*. În cazul în care celula efectoare a recunoscut atît structura antigenică cît și antigenele MHC ale celulei-țintă, limfocitul T citotoxic începe să manifeste o serie de modificări metabolice, care implică o creștere a nivelului cGMP și o scădere a cAMP. Activările metabolice conduc în final și la secreția de substanțe citotoxice, așa cum rezultă din faptul că supernatantul unei culturi de celule citotoxice conține *limfotoxine* (mediatori ai citolizei anumitor celule-țintă). După secreția de substanțe citotoxice, limfocitul T efector se desprinde de celula-țintă și poate trece să-și exercite activitatea citotoxică asupra altei celule-țintă, așa cum au dovedit studiile microcinematografice. *Moartea celulei-țintă* are loc ca urmare a unor modificări celulare încă insuficient elucidată.

b) *Celula K* (diferit de *limfocit natural ucigaș)* aparține unei populații de celule mononucleate, are aspect de limfocit mic, dar nu prezintă niciuna din caracteristicile limfocitelor T sau B. Celulele K (de la engl. „killer" — ucigaș) este capabilă să distrugă celule—învelite în anticorpi, procesul avînd loc în absența sistemului complement. Fenomenul este denumit „citotoxicitate anticorp-dependentă mediată prin celule" (Cerottini și Brunner, 1977) și a fost observat în imunitatea de transplantare și în cea tumorală. Procesul pare să aibă loc fără o stimulare (sensibilizare) prealabilă a celulei K, cu singura condiție ca celula-țintă să aibă fixat la suprafață un număr (foarte redus) de anticorpi specifici, din clasa IgG[40]) Reacția este inhibată de prezența agregatelor de IgG sau a complexelor imune. Anticorpii dependenți de celula K nu sînt citofili, așa cum rezultă din faptul că citotoxicitatea are loc cînd anticorpii sînt incubați în prealabil cu celula-țintă și nu are loc dacă anticorpii sînt preincubați cu celula K.

Citoliza mediată prin celule K nu este modificată de timectomie sau aplazie timică, nici de agammaglobulinemie sau de tratamentul cu ser anti-theta ori anti-Ig, și nici de trecerea peste o rețea de nylon. Aceste date permit să se considere că celula K nu este nici limfocit T, nici B și nici macrofag. Ca și monocitele și limfocitele B, celulele K au însă receptori pentru fragmentul Fc de IgG. Este însă necesar ca anticorpul IgG să se fixeze inițial pe determinanții antigenici ai celulei-țintă ; numai după aceea celula K se poate lega de fragmentele Fc (v. mai înainte). Reacția are loc la 37°C și se realizează rapid, în circa o oră putîndu-se constata liza celulei-țintă.

c) *Macrofagul activat* de limfocitul T, prin intermediul unui factor de „înarmare" a macrofagului, devine capabil să lizeze celule-țintă învelite în anticorpi specifici. Macrofagul posedă receptori pentru fragmentul

---

[40]) Producerea acestor anticorpi este mediată de celula T ajutătoare, de unde rezultă că exprimarea funcției celulei K este într-un anumit sens dependentă de limfocitul T.

Fc al anticorpilor din clasa IgG și, după „înarmare" prin factorul liberat de limfocitul T sensibilizat (v. cap. II, A), poate acționa citotoxic similar cu celula K. Factorul de „înarmare" care activează macrofagul nu este antigen-specific, astfel că acțiunea citotoxică a macrofagului este ea însăși nespecifică, la fel ca în cazul citolizei anticorp-dependentă mediată de celulele K.

Activitatea citotoxică anticorp-dependentă a macrofagelor și celulelor K apare de reală semnificație în procesele de eliminare a celulelor transplantate sau a celulelor tumorale, față de care adeseori organismul gazdă produce cantități foarte mici de anticorpi, insuficiente pentru citoliza complement-dependentă mediată prin anticorpi (Păunescu, 1980).

Mecanismele imune implicate în respingerea grefei sînt în principal mediate prin limfocite T. Acest lucru este foarte bine evidențiabil în respingerea primară a alogrefelor, în care caz limfocitul T citotoxic se diferențiază și devine efector înainte de apariția anticorpilor. În același sens argumentează și reacțiile MLC, care constituie o simulare *in vitro* a condițiilor de grefă primară.

Imunitatea de transplantare poate fi transferată la organisme normale prin intermediul limfocitelor T, în timp ce serul nu realizează transferul acestui tip de imunitate. De asemenea, dacă se transferă limfocite sensibilizate la un organism ce poartă aloantigenele sensibilizante, la locul de administrare apare o reacție inflamatorie analogă cu reacția de hipersensibilitate întîrziată. O astfel de reacție nu apare dacă se transferă ser de la organismul sensibilizat, ceea ce constituie o dovadă în plus că limfocitul este responsabil de procesele imune ce au loc în respingerea primară de grefă.

Procesele imune sînt însă net mai complexe în cazul respingerilor hiperacute de grefă, observabile la organisme preimunizate, ca și în cazul respingerilor cronice, observabile la organisme supuse tratamentului imunosupresor sau prezentînd diferențe mici de histocompatibilitate față de grefon. În ambele aceste situații rolul anticorpilor devine important.

Anticorpii funcționali în imunitatea de transplantare sînt de diferite tipuri: *(1)* anticorpii IgG participă la citoliza mediată prin celule K și/sau macrofage; *(2)* anticorpii citotoxici fixatori de complement realizează forma hiperacută a respingerii de grefă ; *(3)* în respingerile cronice ce au loc sub imunosupresie se pot evidenția depozite de Ig în grefă, ceea ce sugerează contribuția anticorpilor și a complexelor imune precipitante ; *(4)* anti-
corpii blocanți sau facilitanți, vizibili la organisme tolerante, și care — în
anumite condiții — mai ales în respingerea cronică, inhibă respingerea
grefei ; *(5)* anticorpi anti-Ia, care dețin rol în facilitare.

În privința antigenelor de transplantare (v. cap. I, E), care sînt de
tip DS (definite serologic) sau DL (definite limfocitar), trebuie subliniat
că — imediat după grefare — ele pot pătrunde în organismul gazdă prin
intermediul unei vene, a unui vas limfatic etc. Invers, un număr de limfocite
T recirculante și un număr mai redus de limfocite B circulante din orga-
nismul gazdă se acumulează rapid la nivelul țesutului grefat, unde vin
în contact și recunosc (prin receptori specifici) antigenele DS și DL.

Limfocitele ce recunosc antigenele DL se transformă şi proliferează, iar limfocitele stimulate de antigenele DS se diferenţiază în celule T citotoxice. Celulele T ajutătoare, care cooperează cu alte celule T pentru a induce diferenţierea celulelor T citotoxice, pot coopera şi cu limfocite B, care recunosc antigenele DS şi care, prin activare, se diferenţiază în celule producătoare de anticorpi de transplantare.

Limfocitele astfel activate şi diferenţiate rămîn în majoritate la nivelul ţesutului grefat, de-a lungul vaselor nou formate, producînd o infiltrare mononucleară masivă. Alte limfocite sensibilizate, printre care şi celulele de memorie imunologică, revin în organismul gazdă, populînd ganglionii sateliţi şi/sau trecînd în circulaţie.

Limfocitele T din zona infiltrată, împreună cu anticorpii produşi (într-o fază mai avansată în ganglionii limfatici regionali) şi cu celulele K şi macrofagele, dezvoltă acţiuni citotoxice pentru celulele grefei şi realizează în final respingerea acesteia. Mecanismele de detaliu privind distrugerea ţesutului grefat sînt în mare măsură încă neprecizate.

Reacţia grefei contra gazdă reprezintă suma proceselor imune pe care ţesutul grefat le dezvoltă împotriva organismului gazdă. În condiţii obişnuite, aceste reacţii, deşi există, sînt însă estompate de amploarea răspunsului imun dezvoltat de organismul primitor. În cazul însă în care organismul gazdă este imunoincompetent (ca urmare a iradierii, tratamentului imunosupresor sau prin imunodeficienţă patologică ori de ordin fiziologic, la noul născut), reacţiile grefei contra gazdei devin dominante.

Asemenea reacţii imune declanşate de ţesutul transplantat pot fi obţinute la animalul de experienţă, atunci cînd este genetic sau indus imunocompetent şi cînd i se administrează limfocite T alogene, de origine splenică, ganglionară sau circulatorie.

Tabloul clinic al reacţiei grefă contra gazdă (prescurtat : *reacţie GvH*, de la engl. "graft versus host reaction") este de caşexie cu progresie letală rapidă, simptomele cele mai frecvente incluzînd oprirea creşterii ponderale, diaree, emaciere, spleno- şi hepatomegalie, anemie hemolitică. La nivelul splinei se poate observa o deosebit de intensă proliferare blastică, cu plasmocite pironinofile relativ reduse ca număr şi ştergerea foliculilor malpighieni ; proliferarea este maximă la 8—10 zile de la grefare, apoi rezultă o atrofie splenică. Procese similare de atrofie după o perioadă de hipertrofie intensă se observă şi în cazul ganglionilor limfatici.

Evoluţia reacţiei GvH experimentală poate fi urmărită prin scăderea greutăţii corporale şi/sau prin modificările în greutate ale splinei, raportate la parametrii corespunzători ai organismelor de control (negrefate). Se poate practica şi clearence-ul aurului coloidal, care scade în cazul animalului grefat, deoarece activitatea celulelor sale fagocitare este mult intensificată.

Boala alogenică cronică (boala „runt") poate fi obţinută experimental prin inoculare repetată (la fiecare 2—3 săptămîni) de celule alogene. Simptomatologia în aceste cazuri este de reacţie GvH sistematică, fiind însoţită de o reacţie imunosupresivă, caracterizată prin reducerea producţiei de anticorpi, apariţie frecventă de tumori şi glomerulonefrită prin depozite de complexe imune cu anticorpi anti-MHC.

La baza mecanismelor de inițiere și dezvoltare a reacției GvH este limfocitul T grefat. Rolul acestei celule este demonstrat de o serie de observații experimentale, care au evidențiat că grefele provenite de la un organism lipsit de timus (timectomie neonatală sau aplazie timică congenitală) sau de la organisme tratate în prealabil cu ser anti-theta, nu pot dezvolta reacția GvH. De asemenea, reacția nu poate fi obținută cu grefe provenind de la organisme supuse imunosupresiei. În schimb, dacă animalul care cedează grefa a fost în prealabil imunizat cu celule de la receptorul de grefă, atunci se va realiza o reacție GvH hiperacută, faza de proliferare la nivelul splinei primitorului fiind mult redusă.

Inițierea fazei proliferative splenice este rezultatul multiplicării masive a limfocitelor T și, în mai mică măsură, a limfocitelor B și macrofagelor provenite din țesutul grefat ; acest fenomen a putut fi evidențiat cu ajutorul markerilor cromosomali (T6) purtați de celulele donatorului. În final însă, după cîteva zile de la inițierea proliferării splenice, numai 1% dintre celulele mitotice sînt dintre cele provenite de la donatori, restul de 99% fiind ale organismului primitor de grefă.

În acest moment, multe din limfocitele donatorului au suferit diferențierea și s-au maturat, dobîndind calități de limfocite T citotoxice, cu specificitate pentru celule primitorului (care devin celule-țintă).

Aceste limfocite T citotoxice contribuie la realizarea cașexiei organismului gazdă.

Limfocitele citotoxice astfel apărute și/sau alți efectori imuni originari din țesutul grefat, exercită o acțiune inhibitorie (distructivă ?) asupra celulelor T supresoare ale gazdei, așa cum rezultă din faptul că procesul de imunosupraveghere nu mai are loc și în organismul-gazdă se dezvoltă procese de malignizare. Manifestările de anemie imunochemolitică ce apar în faza de cașexie sînt rezultatul atît al blocării activității limfocitelor T ale gazdei, cît și stimulării de clone B autoreactive față de eritrocitele proprii.

G. *Răspunsul imun în procesele de malignizare*

Imunitatea antitumorală este în bună măsură o formă de imunitate de transplantare, deoarece cuprinde fenomenele imune dezvoltate de organismul gazdă față de celule „străine". Deosebirea principală față de răspunsul imun din transplantare constă în faptul că celulele recunoscute ca „străine" sînt originate din propriile celule, ca urmare a unor procese mutaționale, spontane sau provocate de malignizare.

În mod normal, organismele vertebratelor au capacitatea ca — prin intermediul sistemului lor imunitar — să recunoască și să elimine celulele mutante, inclusiv celulele potențial oncogene (funcția de *supraveghere imunologică* a sistemului imun) (Burnet, 1970). Aceste procese de recunoaștere imunologică și răspuns adecvat sînt posibile datorită existenței unor structuri antigenice deosebite prezentate de celule malignizate, structuri care sînt diferite de cele ale țesuturilor organismului

normal în același stadiu de dezvoltare. Asemenea *antigene tumorale* (v. cap. II, D) sînt de obicei amplasate pe membrana de suprafață a celulei tumorale, astfel că pot iniția răspunsuri imune adecvate, care în final duc la respingerea *in vivo* a celulei. Dacă însă aceste antigene sînt absente de pe suprafața celulei tumorale ori sînt slab imunogene, sau dacă organismul prezintă o stare de deficiență imună, răspunsul imun nu mai este eficient și celulele maligne nu mai sînt respinse.

În acest sens, mai multe observații și experimente au demonstrat rolul supravegherii imunologice eficiente în blocarea dezvoltării tumorilor *in vivo* (Brent și Holborow, 1974). La om, tumorile maligne se dezvoltă cu mare frecvență la copiii cu anumite deficiențe imune constituționale (deficit funcțional al timusului, în primul rînd). Frecvența înaltă a apariției de tumori maligne se observă după tratamente prelungite cu imunosupresori ; spre exemplu, ca urmare a unor astfel de tratamente aplicate după transplant de rinichi, s-a constatat o proporție mare de procese maligne, în special sarcoame ale organelor hematopoietice. Aceste date sugerează că imunodeficiența naturală sau indusă facilitează dezvoltarea tumorilor.

Experimental, s-a demonstrat că animalele nou născute sînt deosebit de sensibile la factori cancerigeni (inclusiv virusurile), ceea ce corespunde unei imaturități a sistemului lor imun. Timectomia neonatală de asemenea crește sensibilitatea la tumori. *Imunosupresia*, obținută experimental prin iradiere, medicamente imunosupresoare sau administrare de ser anti-theta, se însoțește de apariția de tumori maligne cu o frecvență semnificativă mai mare decît la animalul cu reactivitate imună normală.

Alte studii experimentale au evidențiat mai multe situații în care un organism cu sistem imun normal constituit și funcțional devine totuși subiectul dezvoltării de tumori maligne (Brent și Holborow, 1974). Asemenea situații au loc în cazul existenței de antigene tumorale slab imunogene pe suprafața celulei maligne. Acești imunogeni slabi induc un răspuns imun redus și lent, ceea ce permite clonei de celule tumorale să se dezvolte în timp mai repede decît răspunsul imun eficient. Mai multe mecanisme pot concura la ineficiența supravehgerii imunologice în asemenea cazuri : *(a)* localizarea tumorii în țesuturi greu accesibile celulelor imunocompetente efectoare (de ex. : timusul sau măduva osoasă) ; *(b)* inducerea unei imunodepresii trecătoare sau prelungite, ca urmare a eliberării în circulație a unei cantități mari de antigene tumorale ; *(c)* intervenția unor factori secretați de anumite celule tumorale (de ex. : celulele trofoblastice), care pot inhiba migrarea macrofagelor către țesutul tumoral, împiedicînd astfel participarea (esențială) a acestor fagocite la procesul de recunoaștere imunologică ; *(d)* dezvoltarea unor procese de *facilitare* a mitozei celulelor maligne, procese care rezultă în cursul unui răspuns imun foarte slab ; *(e)* apariția de procese de *modelare antigenică* la nivelul celulei tumorale, procese care permit acestor celule să iasă de sub controlul imunologic existent (spre ex. : antigenul TL dispare de pe suprafața celulelor tumorale în prezența anticorpilor specifici, ceea ce face ca celulele să reziste acțiunii acestor anticorpi și să continue să se dezvolte nestînjenite) ; *(f)* inducerea unui *blocaj al reacțiilor de răspuns imun* prin anticorpi circulanți cu un titru scăzut, așa cum se observă în cazul cînd celulele tumorale țintă sînt învelite cu anticorpi antitumorali și scapă astfel acțiunii celu-

lelor T citotoxice (acest „blocaj" nu este însă deosebit de important *in vivo*, deoarece celulele K sînt eficiente selectiv contra unor astfel de celule țintă învelite în anticorpi).

Importanța imunității antitumorale pentru blocarea dezvoltării proceselor maligne este bine demonstrată și de experimentele de transfer ale acestei stări de imunitate, ca și de eficiența imunoterapiei în multe cazuri de tumori maligne (v. mai departe).

Transferul imunității antitumorale este posibil prin folosirea de limfocite histocompatibile provenite de la un organism purtător de tumoră. Acest transfer adoptiv produce protecție eficientă contra grefelor ulterioare cu tumori ce au același spectru antigenic ca și tumora purtată de organismul donator de limfocite. Imunitatea antitumorală transferată prin limfocite singenice este nu numai eficientă dar și durabilă, spre deosebire de imunitatea transferată prin anticorpi care este numai parțial eficientă și nu are durată lungă.

Aceste date indică rolul major al imunității mediată celular în răspunsul imun față de procesele de malignizare.

Imunitatea mediată celular în reacțiile antitumorale a fost evidențiată prin aplicarea tehnicilor de evidențiere a sensibilității la antigenele celulelor tumorale : *(1)* transformarea blastică și/sau încorporarea de ^{3}H-timidină de către limfocitele sensibilizate în prezența celulelor tumorale ; *(2)* inhibiția migrării macrofagelor ; *(3)* inhibarea creșterii coloniilor de celule tumorale în prezența mononuclearelor organismului purtător al tumorei ; *(4)* eliberarea markerului (^{51}Cr) de către celula tumorală în contact cu limfocite de la organismul purtător al tumorei.

Aplicarea acestor tehnici la om pentru studiul imunității în cazul tumorilor solide ridică dificultăți mari din cauza inaccesibilității celulelor tumorale ; iar utilizarea de extracte de celule tumorale (obținute prin metode chirurgicale ori bioptice) nu dă rezultate confidente din cauza incapacității limfocitului T sensibilizat de a răspunde la antigene solubile. Aceste tehnici au fost însă aplicate cu succes în cazul hemopatiilor maligne și s-a putut observa că bolnavii leucemici în remisiune posedă celule limfoide care, *in vitro*, se transformă blastic și proliferează în prezența blaștilor leucemici recoltați de la același bolnav în cursul fazei leucemice active (asemenea blaști leucemici pot fi conservați în azot lichid). Fenomene similare au fost descrise în cazul altor tumori umane, cum sînt melanoamele. Ele demonstrează existența unei sensibilități a anumitor limfocite circulante la celulele tumorale, fără a putea da însă informații asupra stadiului procesului tumoral sau despre prognosticul acestuia.

Testele de citotoxicitate și/sau de citoliză au permis demonstrarea dezvoltării unor reacții de limfocitotoxicitate în procesele maligne (Brent și Holborow, 1974). Celulele capabile de a distruge prin citotoxicitate celulele tumorale sînt, ca și în cazul răspunsului imun în transplantare (cap. III, F), de mai multe tipuri : *(a)* limfocite T citotoxice, cu specificitate strictă pentru celulele țintă care au indus diferențierea lor imună ; *(b)* celule K care sînt „ucigașe" pentru celule tumorale învelite în anticorpi specifici din clasa IgG ; *(c)* macrofage „înarmate" prin intermediul limfocitelor T sensibilizate la antigenele tumorale ; *(d)* *celule NK* („natural killer") care — ca și celulele K — sînt prezente în organismul normal

(cel puțin la șoarece) și sînt capabile să lizeze anumite linii celulare limfoblastoide induse prin infecție virală. Asemenea celule „natural ucigașe" spre deosebire de celulele K, nu necesită ca celula țintă să fie în prealabil învelită în anticorpi. Capacitatea lor citolitică pare să fie corelabilă cu complexul de histocompatibilitate majoră (MHC) și sînt implicabile în procesele de rezistență (neimună) la tumorile maligne induse prin infecție virală.

Procesele de limfocitotoxicitate efective în imunitatea tumorală apar și se dezvoltă pe un fond de hipersensibilitate întîrziată față de antigenele tumorale, așa cum rezultă din faptul că administrarea intradermică de antigene tumorale (solubile sau celulare) la organismul purtător al respectivei tumori declanșează o reacție de hipersensibilitate celulară de tip tardiv.

În cadrul proceselor de imunitate antitumorală mediată celular trebuie incluse și reacțiile care conduc la diferențierea de limfocite T supresoare sau de macrofage supresoare. Dintre acestea, acțiunea limfocitului T supresor este mai frecventă și ea se caracterizează prin capacitatea de a inhiba activitatea cooperantă a limfocitului T ajutător cu limfocite T sau B. Supresia celulară specifică poate deci afecta atît imunitatea mediată celular, cît și producerea de anticorpi antitumorali.

Imunitatea umorală în reacțiile antitumorale a fost studiată atît experimental cît și la om.

Pentru cercetarea experimentală a rolului anticorpilor în imunitatea antitumorală este necesar să se țină seama de următoarea condiție restrictivă: pentru a constata dacă sînt întrutotul efectivi și specifici procesului tumoral, anticorpii trebuie studiați fie direct la purtătorul de tumoră, fie la organisme care poartă aceeași tumoră și aparțin aceleiași linii genetic selecționată de animale (anticorpii obținuți prin grefe de tumoră la animale de altă specie au numai rolul de a demonstra imunogenitatea respectivei tumori).

Anticorpii circulanți recoltați de la animale purtătoare de tumoră manifestă, în prezența complementului, capacități litice pentru celulele tumorii autohtone. Acești anticorpi sînt considerați, ca și în cazul imunității de transplantare, capabili să distrugă tumora.

Un alt tip de *anticorpi*, nefixatori de complement și necitolitici, au fost identificați ca *opsonizanți* pentru celulele tumorale, ceea ce permite recunoașterea celulelor tumorale drept celulă țintă de către macrofage și celule K (v. cap. III, F). Asemenea anticorpi pot exercita însă și o *funcție blocantă*, defavorabilă gazdei, deoarece ei se pot fixa pe determinanții antigenici ai celulei țintă, mascînd toți receptorii, inclusiv cei pentru celula T citotoxică. Un asemenea „efect blocant" necesită însă un titru înalt al anticorpilor nefixatori de complement (rezultat al unei hiperimunizări), proces realizabil în condiții experimentale, dar dificil de evidențiat la om.

Anticorpii antitumorali au fost evidențiați și la bolnavi purtători de diferite tipuri de tumori (Dore și Kourilsky, 1974). De obicei acești anticorpi sînt specifici pentru antigenele MHC ale celulelor maligne. În anumite cazuri particulare, cum sînt cele ale tumorilor asociate virusului Epstein-Barr (*limfomului Burkittt* și *carcinomului nazofaringean*), anti-

corpii identificaţi erau specifici antigenelor virusului inductor al tumorii. Aceşti anticorpi au specificitate similară cu cea a anticorpilor antivirali prezenţi la indivizi normali, purtători ai virusului corespunzător, dar lipsiţi de tumoră. La canceroşi, însă, titrul anticorpilor antivirus Epstein Barr (anti-VEB) este net mai ridicat decît la purtători sănătoşi de virus sau la bolnavii cu mononucleoză infecţioasă (o manifestare benignă a infecţiei cu virus Epstein-Barr).

Anticorpii anti-VEB au specificităţi diferite: (*a*) unii sînt specifici pentru capsida virală şi pentru antigenul viral „timpuriu", antigene ce aparţin constituenţilor virali şi apar în cursul sintezei intracitoplasmice a virusului; aceşti anticorpi sînt foarte frecvenţi la persoanele sănătoase purtătoare de VEB şi la foştii bolnavi de mononucleoză infecţioasă, fiind prezenţi numai în titruri foarte reduse la bolnavii cu tumoră; (*b*) anticorpi faţă de antigenul nuclear al VEB; ei sînt constant prezenţi la bolnavii cu proces malign, însă nu pot deţine un rol important în rezistenţa la tumoră deoarece antigenul nuclear faţă de care sînt specifici este localizat cromosomal în celula tumorală; (*c*) anticorpi anti-antigen de membrană, care recunosc antigenele specifice învelişului viral şi celulei maligne; aceşti anticorpi sînt efectori în rejecţia celulelor tumorale, ca şi în eliminarea *mononucleozei infecţioase* (Klein, 1973).

Anticorpi anti-antigene de membrană au fost identificaţi şi în limfomul Burkitt, prezentînd titruri serice înalte la bolnavii cu perioade prelungite de remisiune.

În *cancerul cervical* a fost incriminat drept agent etiologic virusul herpetic tip 2 uman. Virusul are un mecanism de dezvoltare latentă, care deţine un rol cheie în dezvoltarea neoplaziei cervicale. Virusul coexistă în celula gazdă, ceea ce duce la stimularea producerii de anticorpi: 90% dintre bolnavele cu carcinom scvamos invaziv al cervixului prezintă anticorpi circulanţi cu specificitate pentru virionul herpetic tip 2 (Bey, 1978). Nu este însă bine precizat dacă herpesvirusul uman tip 2 este inductor sau numai un promotor al cancerului cervical, însă este sigur că stimularea imunităţii organismului poate preveni sau limita proliferarea virusului dobîndit natural (Bey, 1978).

La bolnavii cu *carcinom hepatocelular* au fost puse în evidenţă anticorpi corespunzători antigenelor virusului hepatitei B („hepatita serică"), şi anume: *antigenul de suprafaţă*, *antigenul core* şi *antigenul „a"*, strîns asociat cu infecţia hepatitică B. Incidenţa acestor antigene şi a anticorpilor respectivi în serul bolnavilor cu cancer primar de ficat pare să varieze în diferite părţi ale lumii; spre exemplu, în Taiwan şi Africa orientală prezenţa antigenului de suprafaţă a fost constatată la circa 80% dintre canceroşii hepatici, în timp ce în alte zone geografice corelaţia este mult mai redusă (Alexander şi colab., 1978).

Un alt grup de cancere în care etiologia virală este demonstrată (la animal) sau incriminată (la om) îl constituie malignizările hematopoietice, tipurile limfoide şi cele mieloide, printre care *leucemia acută*. Agenţii implicaţi sînt virusurile tip C, a căror transmitere poate avea loc atît vertical, prin derepresia virusului integrat în genomul gameţilor parentali (Huebner şi colab., 1976), cît şi orizontal, prin particule infectante (Hardy şi colab., 1976). Rolul reactivităţii imune în aceste cancere a fost indirect demonstrat, la animal şi la om, prin constatarea că vaccinarea antituber-

culosă cu BCG, care crește reactivitatea imună generală, se însoțește de o reducere a incidenței leucemiilor la copii vaccinați la naștere (Hoover, 1976).

Serurile bolnavilor cu *cancer de sîn* conțin anticorpi față de propriile tumori și față de celule tumorale omoloage, provenite de la șoareci neonatal infectați cu virus tumoral mamar (Black și colab., 1976). Originea virală a multor cancere de sîn umane este susținută și de studiile lui Moore și colab. (1971), care au raportat o mare incidență a virusului tip B în laptele femeilor parsee din Bombay, o populație în care cancerul de sîn este înalt prevalent. Studiile la șoarecii cu tumori virale de sîn au arătat că anticorpii circulanți ce sînt produși în cursul procesului de malignizare au cel puțin două specificități : față de antigenele virale și față de celula diferențiată malign (Bowen și colab., 1976).

Anticorpii asociați cu alte tumori umane, de altă origine decît cea virală, sînt mai puțin studiați, din cauza dificultăților de a obține antigenele specifice. Asemenea anticorpi au fost însă identificați în variate tipuri de tumori umane : melanoame, tumori ale sistemului nervos, osteosarcoame, stări maligne hematopoietice etc. Acei anticorpi, care au specificitate față de antigenele exprimate pe suprafața celulei maligne, par să aibă o eficiență reală. Dintre aceștia fac parte anticorpii anti-antigene MHC, dar nu fac parte anticorpii antifetoproteină sau împotriva antigenului carcinoembrionar (aceste antigene nefiind substanțial atașate la membrană și prezentînd imunogenitate redusă).

Procesele implicate în răspunsul imun antitumoral sînt atît de ordin celular cît și umoral.

Într-o primă fază, celulele T recunosc ca „non-self" celulele tumorale. Această recunoaștere se face în prezența și cu contribuția macrofagelor, care de altfel participă și la reacția inflamatorie tisulară locală. Asemenea procese inflamatorii activează macrofagele, care devin capabile să distrugă, nespecific, celulele tumorale.

Ca urmare a recunoașterii imune și a inițierii răspunsului imun se diferențiază celule T citotoxice și începe producerea de anticorpi specifici față de variatele antigene tumorale (celulare, virale etc.).

Celulele T citolitice, similare cu cele ce acționează în imunitatea de transplantare, sînt ușor detectabile în cazul tumorilor experimentale induse prin virusuri oncogene. *Limfocitele T citotoxice sînt considerate* ca deosebit de eficiente în *supravegherea imunologică*. Activitatea lor poate fi însă depășită fie ca urmare a unor deficiențe imune de moment (anergie postvirală, spre exemplu și în acest caz procesul tumorigen se poate dezvolta rapid, fie ca urmare a unei imunogenități foarte slabe a celulei tumorale, care astfel limitează inițierea și dezvoltarea de clone de celule T citolitice active. De altfel, tumorile puternic antigenice sînt foarte rar detectabile clinic, ele provocînd apariția promptă de limfocite citotoxice care le elimină rapid.

De asemenea în funcție de gradul de imunogenitate al celulelor tumorale, producția de anticorpi specifici poate fi masivă sau slabă. Anticorpii de mare afinitate pot împiedica reapariția de noi clone tumorale cu aceeași specificitate antigenică. Anticorpii cu afinitate redusă nu sînt la fel de eficienți în blocarea antigenelor tumorale ; ei pot însă forma

complexe cu antigenele tumorale eliberate, iar aceste complexe antigen — anticorp pot constitui factori circulanţi blocanţi, care au capacitatea de a inhiba acţiunea celulelor T limfoide efectoare.

Anticorpii cu afinitate redusă se pot fixa pe celulele tumorale fără a realiza citoliza complement-dependentă a acestor celule. În aceste cazuri, însă, ei pot contribui la citoliza prin celule K sau prin macrofage (fixatori ai fragmentului Fc).

Eficienţa *in vivo* a celulelor K pare să fie mai redusă decît cea observată *in vitro*, deoarece celulele tumorale pot bloca acţiunea celulelor K prin eliberarea unui exces de antigen, acesta realizînd neutralizarea extracelulară a anticorpilor necesari producerii citolizei. În felul acesta, eliminarea celulelor tumorale ca urmare a acţiunii celulelor K este probabil limitată *in vivo*; semnificaţia exactă a reacţiilor celulei K în imunitatea antitumorală la om încă nu este suficient elucidată.

În ceea ce priveşte activitatea antitumorală a *macrofagelor*, aceasta apare evidentă: macrofagele contribuie la necroza celulară şi celelalte fenomene inflamatorii asociate procesului tumoral; de asemenea, macrofagele sînt prezente alături de limfocitele T în ţesutul tumoral pe cale de eliminare. Participarea macrofagelor la fenomenele de rejecţie a tumorii nu este imunologic „specifică", activitatea lor nefiind condiţionată de prezenţa antigenelor tumorale decît în prima fază, de iniţiere a răspunsului imun, atunci cînd cooperează cu limfocitul T pentru recunoaşterea celulelor tumorale (Păunescu, 1980).

Din complexul de fenomene care participă la imunitatea antitumorală, rezultă că în marea majoritate a cazurilor momentul decisiv este situat foarte timpuriu în istoria procesului cancerigen, şi anume în perioada apariţiei primelor celule malignizate. Dacă în acest moment imunosupravegherea mediată prin limfocite T este eficientă, atunci procesul tumorigen poate fi controlat. Dacă însă supravegherea imună nu funcţionează şi procesul de malignizare se amplifică, restabilirea ulterioară a capacităţii normale de răspuns imun nu mai ajută eficient la eliminarea tumorii.

Pentru aceste motive, în ultimii ani s-au făcut eforturi importante în domeniul imunoterapiei cancerului.

Imunoterapia anticanceroasă poate fi teoretic realizată fie în mod pasiv, fie activ.

Imunoterapia pasivă a fost studiată experimental, prin transfer de celule limfoide sensibilizate şi/sau de anticorpi antitumorali, proveniţi de la un organism purtător de tumoră. Dacă asemenea transferuri s-au practicat înainte de grefarea tumorii şi dacă organismele donator şi receptor aparţineau aceleiaşi linii inbred (deci histocompatibilitatea era asigurată), imunoterapia pasivă realiza protecţia receptorului contra tumorii grefate. Aceeaşi imunoterapie nu este însă capabilă să asigure eliminarea unei tumori grefate anterior, ceea ce demonstrează odată în plus importanţa proceselor de supraveghere imună în prevenirea dezvoltării proceselor oncogene.

Imunoterapia pasivă prin celule limfoide este sever limitată la om din cauza restricţiei de histocompatibilitate între donator şi receptor.

Imunoterapia pasivă prin transfer de anticorpi este de asemenea limitată din cauza existenței de anticorpi specifici pentru antigenele normale ale receptorului, atunci cînd serul imun este preparat la organisme de specie diferită.

Aceste limitări importante justifică de ce imunoterapia pasivă antitumorală nu și-a găsit aplicativitate în clinica umană.

Imunoterapia activă poate fi *specifică* sau *nespecifică*. Imunoterapia specifică poate fi profilactică sau terapeutică, cu condiția de a realiza vaccinări cu antigene tumorale specifice. O asemenea posibilitate a fost întrezărită în cazul tumorilor prin infecții virale oncogene (Bey, 1978), dintre care la om sînt de luat în considerație patru grupuri de virusuri : polioma, herpesul, leucemia tip C și virusurile tumorale mamare tip B. În prezent, asemenea vaccinuri virale sînt însă numai în fază de studiu experimental.

Imunoterapia activă nespecifică are drept scop ridicarea nivelului de reactivitate imună a organismului și ea se practică cu adjuvanți imunologici cu acțiune centrală, de tipul bacilului Calmette-Guerin (BCG) și al *Corynebacterium parvum*. Imunopotențarea prin administrare de vaccin BCG este o realitate și acțiunea profilactică antitumorală a vaccinării BCG la naștere a fost semnalată cel puțin în cazul leucemiilor acute ale copiilor (Hoover, 1976). Pentru activitatea terapeutică a acestor adjuvanți cu acțiune centrală, datele actuale sînt mai puțin categorice, rezultate satisfăcătoare fiind raportate numai într-o serie de cancere ale pielii și mucoaselor. În aceste cazuri administrarea vaccinului se poate face direct în tumoră sau în imediata vecinătate a sa, ceea ce asigură nu numai un efect stimulator asupra activității imune generale, ci și un efect adjuvant nemijlocit pentru producerea de anticorpi antitumorali.

Imunoterapia anticanceroasă este un capitol abia la început, încă insuficient dezvoltat, dar al cărui viitor pare deosebit de promițător.

H. *Toleranța imunologică*

În 1945, Owen a observat, la gemeni, că celulele hematopoietice schimbate diaplacentar, prin anastomozele vasculare ale placentelor, *în timpul vieții embrionare*, nu sînt rejectate ci, dimpotrivă, pătrund în organele partenerului, le colonizează, proliferează și persistă timp îndelungat ; În final, fiecare gemen va deține eritrocite circulante provenind de la ambele organisme (v. Katz și Benacerraf, 1975). Astfel de organisme, care poartă celulele multipotente funcțional și descendenți maturi ai acestora provenind de la un organism străin, sînt cunoscute sub numele de *himere* și au fost ulterior obținute și la *organisme nou-născute* prin administrarea de celule splenice provenite de la un alt organism. Șoarecii nou-născuți inoculați cu splenocite de la un alt șoarece devin „toleranți" față de aceste celule. Organismele-himeră astfel create nu rejectează splenocitele străine inoculate nici cînd ajung la vîrstă adultă ; aceste organisme-himeră își păstrează însă nealterată capacitatea de răspuns imun față de alte antigene.

Fenomenul de „himerism” este un exemplu tipic de toleranță imunologică în care organismul -himeră prezintă o inhibiție specifică a capacității de răspuns imun față de celulele străine inoculate la naștere.

Inducerea stării de toleranță imunologică se poate obține și cu alte antigene (celulare sau solubile), administrate unui organism nou-născut. În condițiile imaturității sistemului imun, în perioada imediat postnatală, este deci demonstrat că administrarea unui antigen, în loc de a duce la dezvoltarea unui răspuns imun mediat prin anticorpi și/sau celule induce o stare de „paralizie” imună față de respectivul antigen, în sensul că readministrarea ulterioară a aceluiași antigen este tolerată de organismul respectiv, care nu mai are capacitatea de a răspunde specific la *tolerogen* (antigenul inductor al stării de toleranță imunologică).

Toleranța la antigene solubile poate fi obținută nu numai prin administrarea antigenului la făt sau la noul născut[41], ci și la adult, prin administrarea concomitentă de doze mari de antigen și imunosupresoare (ser antilimfocitar, metilhidrazină, ciclofosfamidă etc.). În acest caz se folosește termenul de *toleranță imunologică prin doze mari* de antigen (Mitchison, 1964), spre deosebire de toleranța obținută în perioadele fetală sau postnatală care sînt realizabile „prin doze mici” de antigen.

Inducerea stării de toleranță (paralizie) imunologică este dependentă de numeroși factori, printre care : *a*) natura antigenului și doza administrată ; *b*) calea și metoda de administrare a antigenului (tolerogenului) ; *c*) imunocompetența și specia organismului receptor.

a) **Natura antigenului și doza administrată** sînt elemente decisive în inducerea toleranței imunologice. Aceasta în primul rînd datorită faptului că nu orice imunogen poate fi și tolerogen, numai ca urmare a modificării dozei administrată și/sau a administrării într-o perioadă de imunodepresie a organismului. În prezent sînt cunoscute grupuri de antigene „tolerogene” în opoziție cu forme „imunogene” ale acelorași sau altor antigene. Un exemplu în acest sens îl constituie γ-globulina serică, care în forma agregată este imunogenă, în timp ce în forma solubilă este tolerogenă. De obicei preparatele de γ-globulină sînt imunogene deoarece conțin o mică proporție de forme agregate ; prin încălzire, tratare cu acizi diluați etc., aceste agregate se înmulțesc, astfel că imunogenicitatea preparatului se amplifică. Dacă însă un astfel de preparat este ultracentrifugat (90 min la 120 000 *g*), agregatele sedimentează, iar supernatantul — care conține numai forme monomere — devine tolerogen (Bach, 1978).

În general, pentru orice proteină forma agregată este imunogenă, iar cea solubilă este tolerogenă. Flagelina (antigen de *Salmonella*) este tolerogenă numai după acetoacetilare sau tratare cu bromcian, procese care previn agregarea.

Este de presupus că, în timp ce formele agregate stimulează celulele T și acestea, la rîndul lor, pot prezenta celulelor B antigenul activator (v. *cooperarea T—B*, cap. II, A și B), formele monomere de antigen realizează numai legarea la receptorul de pe celula T și blocarea consecutivă a acestora. Toleranța, în aceste cazuri, ar fi rezultatul inactivării celulelor

---

41) La șoarece și iepure, perioada postnatală în care este posibilă inducerea stării de toleranță este de 8—15 zile de la naștere

T ajutătoare, prin blocarea receptorilor specifici pentru antigen. Trebuie însă reținut, alături de această ipoteză, că forma tolerogenă a multor antigene este capabilă să stimuleze limfocitele T supresoare specifice pentru antigenul respectiv (v. mai departe).

Haptenele și polipeptidele sintetice, administrate intravenos la cobai adult în doze mari, pot produce toleranță imunologică atît în ceea ce privește producerea de anticorpi cît și hipersensibilitatea de contact. În cazul haptenelor (dinitrofenil), s-a constatat că — prin cuplarea lor cu proteine proprii, ale organismului inoculat — se formează conjugați care sînt mai puternic tolerogeni decît imunogeni.

Conjugatele de tipul „trinitrofenil-albumină serică bovină'' pot induce toleranță, ca urmare a unor inoculări repetate la organisme depresate imunologic prin tratament cu ciclofosfamidă. Aceiași conjugați pot induce toleranță imunologică la animale nou-născute, fără să fie nevoie de tratament imunodepresiv.

Toleranță neonatală care interesează hipersensibilitatea de tip întîrziat a fost obținută cu conjugați (imunogeni la adult) de tipul politirozin-azobenzen arsonatului (Bach, 1978).

Polizaharidele antigenice (ca polizaharidul pneumococic), ca și lipopolizaharidul bacterian (endotoxină detoxifiată a bacteriilor Gram-negative) sînt tolerogene cînd se administrează în doze mari.

Toleranța indusă prin doze mari de polizaharid trebuie diferențiată de *pseudotoleranța* obținută prin doze mici (250 μg) de polizaharid pneumococic, care persistă mult timp în organism (datorită absenței unei depolimeraze specifice pentru respectivul polizaharid), și în care caz nu se pot detecta anticorpi circulanți, dar se pot evidenția celule formatoare de anticorpi (folosind tehnica plajelor de hemoliză). În timp ce „pseudotoleranța'' constă din neutralizarea anticorpilor de către antigenul persistent, în cazul toleranței efective are loc o blocare directă a imunocompetenței (neputînd fi evidențiate celule formatoare de anticorpi).

Antigenele particulate (bacterii, virusuri, celule eucariote eterologe) sînt rapid eliminate din circulație și nu ajung în contact cu celulele imunocompetente ale organismului decît în concentrații mici, ceea ce le asigură caracterul de imunogene. Antigenele particulate nu sînt deci tolerogene „de doză mare''; ele pot însă induce toleranță postnatală, cu condiția ca antigenele de histocompatibilitate (în cazul celulelor eucariote) să fie suficient de apropiate de cele ale receptorului.

În ceea ce privește antigenele bacteriene și virale, acestea sînt slab tolerogene chiar în cazul administrării lor postnatale. Astfel, spre exemplu, administrarea încă de la naștere de doze repetate de virus al influenței produce numai o hiporeactivitate specifică. În mod asemănător, inocularea la naștere a virusului limfocoriomeningitei induce o toleranță parțială față de acest virus; în plus, toleranța este însoțită de producere de anticorpi și de formare de *complexe imune*, care se depun de-a lungul membranelor bazale glomerulare și produc glomerulonefrită (v. cap. VI, D).

Doza de antigen este esențială în producerea toleranței. După cum s-a menționat, la adult se poate obține toleranță prin administrare de doze mari de antigen sau prin administrare repetată de doze mai mici de antigen, care să însumeze o doză mare.

În cazul toleranței neonatală obținută prin doze mici de antigen, pentru a menține toleranța specifică de-a lungul întregii vieți este necesar să se readministreze serii de doze mici din tolerogenul respectiv.

Toleranță prin doze mici a fost obținută și la adult (Mitchison, 1964) prin administrarea repetată de doze subimunogene de albumină serică bovină la șoarece și de albumină serică umană la iepure. La șobolan nu s-a putut obține toleranță prin utilizarea de doze mici de albumină serică eterogenă. De asemenea, toleranță prin doze mici de antigen nu s-a putut obține la adult nici cu alte antigene, ca ovalbumină, anatoxina difterică, lizozim, ribonuclează. Deci toleranța la adult prin doze mici se poate realiza numai la anumite specii și numai cu anumite antigene.

b) **Calea și metode de administrare a tolerogenului** influențează inducerea toleranței în special la adult și mai ales în cazul antigenelor particulate. Astfel, în timp ce pentru antigenele solubile calea de administrare nu este esențială (deoarece concentrația lor în spațiile intra- și extracelulare se echilibrează rapid), pentru antigenele particulate este mai eficace calea intravenoasă, care asigură un contact mai bun cu celulele imunocompetente.

În cazul anumitor antigene se recomandă metode speciale de administrare pentru inducerea stării de toleranță imunologică. Astfel, unele haptene — spre exemplu clorura de picril — administrate intradermic la cobai se leagă de grupările aminice libere ale lizinei din proteinele tisulare și devin imunogene (se produc anticorpi specifici și hipersensibilitate întîrziată). Dacă însă aceeași haptenă se administrează în doze mari pe cale orală sau intravenos, se induce toleranță : administrarea ulterioară a haptenei pe cale i.d. (calea imunogenă obișnuită) nu mai dă naștere la anticorpi sau hipersensibilitate.

Un alt caz special îl constituie γ-globulina bovină, care — datorită stării de agregare — este de obicei imunogenă. Dacă este însă administrată în vena mezenterică, ea ajunge în ficat unde este redusă la forma monomeră și devine tolerogenă. De asemenea, inocularea γ-globulinei bovine direct în timus duce la apariția stării de toleranță (ceea ce demonstrează rolul timusului în inducerea stării de toleranță imunologică).

c) **Imunocompetența și specia organismului receptor.** După cum s-a amintit, numai unele specii de mamifere (șoarece, iepure) sînt apte să dezvolte toleranță imunologică la doze mici dintr-un anumit antigen (albumină serică eterologă). Există deci la anumite specii, unii factori particulari de imunocompetență, care pot facilita instalarea toleranței. De altfel în același sens pledează faptul că anumite tulpini de șoareci pot fi făcute tolerante cu doze foarte reduse de antigen (0,1 mg γ-globulină umană dezagregată sînt suficiente pentru a induce toleranța la șoarecii C57BL/6J), în timp ce alte tulpini necesită doze de antigen de 10 ori mai mari (A/J) sau chiar de 100 de ori (BALB/c) mai mari pentru a realiza toleranța imunologică.

Imunocompetența slabă, incomplet dezvoltată, este cauza evidentă care permite inducerea toleranței neonatale. De asemenea, la adult, pentru a putea realiza inducerea efectivă a toleranței la un anumit antigen, este necesar să fie inhibată capacitatea generală de răspuns imun prin imunosupresoare.

Imunodepresia poate fi obținută prin iradiere totală subletală, prin administrare de anti-metaboliți ,de agenți alkilanți, de metilhidrazină sau de ser antilimfocitar; de asemenea, imunodepresia poate fi obținută prin eliminarea din organism a limfocitelor, ca urmare a drenării canalului toracic. Imunosupresia permite instalarea toleranței chiar și în cazul organismelor care fuseseră în prealabil sensibilizate.

Mecanismele de toleranță imunologică implică sistemul imun și, în particular, atît limfocitele T cît și pe cele B. O primă argumentație în acest sens o constituie faptul că toleranța imunologică poate fi transferată la organisme receptoare iradiate, folosind limfocite provenite de la un organism singenic tolerant. Starea de toleranță imunologică poate fi transferată atît în cazul toleranței umorale (incapacitatea de a sintetiza anticorpi antipolizaharid pneumococic), cît și în cazul toleranței pentru hipersensibilitate întîrziată (incapacitatea de a răspunde la intradermoreacția cu 2,4-dinitro-1-clorbenzen).

Capacitatea tolerogenă poate fi transferată de obicei după circa 9—10 zile de la inducerea ei sau, în cazul γ-globulinei umane dezagregată, pînă la 30 de zile de la inducerea toleranței. Ulterior, după mai multe săptămîni, și în mod special după 3 luni de la inocularea tolerogenului, limfocitele donatorului tolerant nu mai pot transfera starea de toleranță, cu toate că donatorul continuă să fie tolerant la o nouă administrare de tolerogen. Pentru explicarea acestor date, unii autori au emis ipoteza că transferul toleranței necesită prezența antigenului (posibil sub formă de „supertolerogen'', prin analogie cu „superantigenul'') (v. cap. II, D) împreună cu limfocitele transferate.

Explicația acestui comportament deosebit poate fi însă mai complexă, posibil implicînd și celulele T supresoare, care ar putea fi active asupra celulei B numai în prezența tolerogenului.

Dealtfel, o probabilă implicare a celulelor T supresoare în procesele de toleranță imunologică rezultă și din faptul că, pe cînd transferul toleranței la organisme iradiate este relativ ușor, fenomenul invers — de restaurare a capacității de răspuns imun prin transfer de limfocite normale la animale tolerogene și iradiate — este mult mai dificil. Se presupune și în aceste cazuri că persistența tolerogenului în țesuturile receptorului iradiat poate stimula celulele T supresoare (provenite de la donatorul normal) pentru blocarea răspunsului specific al celulelor B la antigenul specific.

Rolul special al limfocitului T în toleranța imunologică rezultă și din faptul că restaurarea competenței imune a unui organism timectomizat, iradiat și reconstituit cu măduvă osoasă (precursori ai celulei B), poate fi realizată prin administrare de timocite normale și *nu* poate fi asigurată prin administrarea de timocite provenite de la un donator tolerant (Möller, 1975; Brent și Holborow, 1974).

Studiile lui Weigle și colab. (v. Brent și Holborow, 1974; Lucas, 1977) au adus contribuții importante la elucidarea mecanismelor de toleranță imunologică. La nivelul celulelor splenice, toleranța poate fi evidențiată la 4 ore de la administrarea tolerogenului și este maximă în ziua a patra. Toleranța este indusă inițial la nivelul celulelor T, care devin tolerante în ziua a doua și păstrează integru acest caracter timp de

circa 150 de zile, cînd calitatea lor de toleranță începe să scadă. Inducerea toleranței la nivelul celulelor B (măduva osoasă) necesită mult mai mult timp pentru a se realiza și este de durată relativ scurtă, chiar atunci cînd se folosesc doze mari de tolerogen.

Dintre celulele T, un rol deosebit în toleranța imunologică revine limfocitelor T supresoare, pe care Weigle și colaboratorii le identifică încă din primele săptămîni de la inocularea antigenului. Transferul de celule splenice de la șoareci toleranți la HGG (γ-globulină umană) împreună cu celule de la șoareci imunizați cu HGG și cu DNP-flagelină, nu permite șoarecilor receptori iradiați în prealabil să dobîndească capacitatea de a răspunde prin anticorpi la stimulul cu conjugați NDP-HGG. Restaurarea capacității de răspuns imun în aceste condiții devine posibilă numai dacă celulele splenice de la donatorii toleranți sînt pretratate cu ser imun antitheta, care distruge celulele T. Rolul limfocitelor T în toleranța imunologică apare astfel evident : atît timp cît în suspensia de celule transferate există celule T tolerante (supresoare), transferul antrenează toleranță ; numai distrugerea celulelor T tolerante permite transferarea unei capacități nealterată de răspuns uman.

Importanța celulelor T supresoare a fost clar demonstrată în cazul toleranței prin doze mici, pentru care participarea limfocitelor T supresoare este indispensabilă (Brent și Halborow, 1974). Evidențierea rolului celulei T supresoare în toleranța imunologică permite explicarea mecanismelor ce asigură transferul toleranței specifice printr-o singură inoculare de celule tolerante și a mecanismelor care nu permit inducerea toleranței față de eritrocite eterologe la animale timectomizate și iradiate, decît cu condiția de a li se administra în prealabil celule timice.

Secreția de anticorpi de către limfocitele B deține un rol minor în toleranță și, așa cum s-a menționat, asemenea anticorpi participă la procese de „pseudotoleranță"; în toleranța propriu-zisă nu s-au putut pune în evidență celule formatoare de anticorpi specifici pentru tolerogen.

O problemă similară este ridicată și de *inducerea toleranței in vitro*, în culturi de celule, prin antigene timus-independente (polimeri antigenici cu determinanți repetitivi) (v. cap. II, B). Dacă un antigen obișnuit netolerogen este în prealabil incubat cu un antigen timus-independent și apoi adăugat într-o cultură de celule splenice normale, acestea devin tolerante la antigenul netolerogen. Explicarea acestui fenomen trebuie corelată cu proprietatea de stimulare policlonală a antigenelor timus-independente (v. cap. II, B și E), care realizează diferențierea blastică și proliferarea unui mare număr de variate limfocite, dar nu și pe aceea a limfocitelor care dețin receptori pentru antigenul adăugat la cultură și care blochează receptorii respectivi. De altfel, o „pseudotoleranță" similară poate fi indusă *in vitro* și în cazul cînd antigenul stimulant este preincubat cu doze mici de anticorp specific. Asemenea reacții de falsă toleranță, evidențiabile *in vitro*, dar nu și *in vivo*, sînt mai curînd fenomene de „lipsă de răspuns imun" decît de toleranță imunologică propriu-zisă. Ele nu implică participarea limfocitelor T supresoare.

Participarea anticorpilor la toleranța imunologică apare mai ales legată de menținerea unei lipse de răspuns imun. Anticorpii pot acționa pe căi diferite : *a*) prin mecanism de feedback, realizînd reglarea producerii de anticorpi ; *b*) prin suprimare idiotipică, realizînd blocarea anticorpilor

ce posedă idiotipul specific; c) prin modificarea calităților imunogene ale antigenului, eventual dezagregîndu-l și transformîndu-l în tolerogen. Aceste activități nu pot însă asigura o toleranță imună veritabilă, de felul celei pe care celulele T supresoare o realizează în prezența tolerogenului.

Toleranța la tumori are la bază mecanisme identice cu cele care asigură toleranța imunologică la antigene solubile, cu principala deosebire că efectul imunodepresor în cazul proceselor de malignizare este intrinsec, nesolicitînd o intervenție specială (v. cap. III, G).

Procesele de *facilitare*, relativ intens studiate în cazul tumorilor și alogrefelor de piele (Voisin, 1971), au la bază tratamentul cu seruri imune „facilitante", obținute prin inocularea de celule tumorale sau alogene la organisme normale. În aceste condiții se obțin anticorpi nefixatori de complement, care *in vitro* blochează activitatea citotoxică antitumorală (respectiv antialogenică) a limfocitelor nesensibilizate. Pe baza acestor rezultate experimentale s-a considerat că la mecanismele de dezvoltare a proceselor maligne participă asemenea anticorpi „facilitanți" care, prin blocarea limfocitelor sensibilizate, pot crea o stare de toleranță imunologică față de tumoră (v. cap. III, G). În acest sens, Hellström (1972) a raportat că animalele aparent tolerante la alogrefe sau la tumori posedă în ser factori care pot bloca capacitatea citotoxică a limfocitelor T. Acești *factori blocanți* (v. cap. III, G) pot fi anticorpi sau complexe antigen—anticorpi, iar acțiunea lor poate fi: (*a*) periferică, de mascare (blocare) a antigenelor majore de histocompatibilitate (v. cap. I, E) sau (*b*) centrală, de neutralizare (blocare) prin complexe imune a receptorilor pentru antigen de la suprafața celulelor T. Specificitățile antigenice ale anticorpilor „facilitanți" nu sînt încă suficient elucidate, dar există unele indicații că ele ar fi corelate cu cele ale anticorpilor anti-Ia (v. cap. I, E și II,B).

Rolul anticorpilor „facilitanți" în toleranța imunologică la tumori și grefe apare deci ca important, fără a limita însă rolul „inactivării centrale" la nivelul reactivității celulelor T supresoare. Ca și în cazul toleranței la antigene solubile, toleranța completă la tumori este expresia acțiunii limfocitelor T supresoare specific activate.

Pierderea toleranței imunologice. Toleranța dobîndită față de un antigen se pierde cu timpul, dacă tolerogenul nu mai este administrat din cînd în cînd. Odată cu pierderea stării de toleranță apar anticorpi cu afinitate slabă pentru tolerogenul respectiv, chiar dacă nu are loc o nouă stimulare antigenică. Iar dacă aceasta are loc, se dezvoltă un răspuns imun de tip secundar.

Pierderea toleranței poate fi obținută și prin mijloace artificiale: inocularea unor molecule ce pot reacționa încrucișat cu tolerogenul (și care pot fi fie tolerogenul inițial modificat prin căldură, fie o proteină similară obținută de la altă specie). Astfel, spre exemplu, toleranța la albumina bovină, obținută prin inocularea acesteia la naștere, poate fi abrogată la organismul adult prin inocularea de albumină umană. Stimularea cu albumină umană are ca rezultat producerea de anticorpi care reacționează atît cu albumina bovină, cît și cu cea umană. De reținut însă că readministrarea de albumină bovină la același organism are ca efect reinstalarea toleranței la albumina bovină (Lucas, 1977).

Mecanismele implicate în aceste fenomene interesează limfocitele T şi B, în sensul că : celulele T supresoare specifice pentru albumina bovină nu sînt stimulate de albumina umană, aceasta din urmă putînd însă activa celule B, care eliberează anticorpi atît strict specifici pentru albumina umană, cît şi alţii cu specificitate dublă, pentru ambele tipuri de albumină, deoarece au situsul de combinare complementar determinantului comun al celor două albumine. Anticorpii rezultaţi vor putea astfel reacţiona atît cu albumina umană, cît şi cu cea bovină. Readministrarea ulterioară de albumină bovină va restimula limfocitele T supresoare specifice, reinstalînd starea de toleranţă imunologică la albumina bovină.

Stimularea diferenţiată prin albumina umană poate fi concepută ca similară cu cea realizată de sistemele „purtător-haptenă" (v. cap. II): determinanţii antigenici ai părţii „purtător" stimulează celulele T, iar determinanţii „haptenici" — care sînt comuni pentru albuminele umană şi bovină — stimulează celulele anticorp-formatoare.

O altă posibilitate de pierdere a toleranţei imunologice o constituie inducerea *reacţiei grefă-contra-gazdă* (v. cap. III, G), care duce la un *efect alogenic* ce se substituie celulelor T specifice de „purtător" şi care sînt tolerante.

Un efect similar îl are şi adjuvantul Freund complet, fapt care face posibil ca administrarea tolerogenului sub formă înrobată în acest adjuvant să ducă la pierderea toleranţei.

Mecanismele de pierdere a toleranţei imunologice sînt deosebit de importante de descifrat deoarece ele constituie baza proceselor de dezvoltare a fenomenelor de *autoimunitate*, care reprezintă în fapt o pierdere a toleranţei imunologice la self (v. partea a doua).

Bibliografie

ABNEY E. R., HUNTER I. R., PARKHOUSE R. M. F., 1976, Nature, *259*, 404. ADLER F. L., FISHMAN M., DRAY S.,1966 J. Immunol., *97*, 554. AIRD I., BENTALL H. H., MEHIGAN J. A., ROBERTS J. A. F., 1954, Brit. Med. J., *2*, 315. ALEXANDER J. J., MACNAB G. M., SAUNDERS R. M., 1978, în *Perspectives in virology*, vol. 10, Raven Press, New York, p. 103. ALLISON A. C., VIRELIZIER J. L., 1974, Adv. Nephrol., *4*, 115. AMERDING D., KATZ D. H., 1974, J. exp. Med., *140*, 19. AMIEL J.L., 1967, în *Histocompatibility testing*, sub red. E. S. CURTONI Munksgaard, Copenhaga, p. 79. ALPER C. A., ROSEN F. S., 1976, Adv. Hum. Genet., 7, 141. ASCHOFF L., 1924, Ergebn. inn. Med. Kinderheilkr., *26*, 1.

BABIOR B. M., 1978, New Engl. J. Med., *298*, 659 şi 721. BACH J. F., 1978, *Immunology*, J. Wiley a. Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto. BALTIMORE D., 1970, Nature, *226*, 1 209. BARNSTABLE C. J., BODMER W. F., BROWN C. şi colab., 1977, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., *41*, 443. BASCH R. S., GOLDSTEIN G., 1975, Ann. N. Y. Acad. Sci., *249*, 290. BAUMAL R., SCHARFF M. D., 1973, Transpl. Rev., *14*, 163. BELL C., DRAY S., 1971, J. Immunol., *107* 83. BENACERRAF B., McDEVITT H. O., 1972, Science, *175*, 273. BERCEANU S. (sub red.), 1967, *Sistemul reticulo-endotelial*, Edit. medicală, Bucureşti. BEY E. M., 1978, S. Africa med. J., *54*, 189. BILELLO P., FISHMAN M., KOCH G., 1976, Cell. immunol., *23*, 309. BINZ H., WIGZELL H., 1977, Contemp. Top. Immunobiol, *7*, 113. BLACK M. M., ZACHRAU R. E., SHORE B., 1976, Cancer Res. *36*, 769. BLANDEN R. V., 1974, Transpl. Rev., *19*, 54. BODMER W. F., 1978, Brit. Med. Bull., *34*, 233. BOWEN J. M., DMOEHOWKSI L., MILLER M. F., 1976, Cancer Res., *36*, 759. BRENT L., HOLBOROW J., 1974, *Progress in immunology*, vol. II, North-Holland, Amsterdam, BRETSCHER P.A., COHN M., 1970, Science, *169*, 1 052.BURNET F.M., 1959, *The clonal selection theory of immunity*, Vanderbilt and Cambridge Univ. Presses, Nashville, Tennessee ;1970, *Immunological surveillance*, Pergamon Press, Oxford. BUSSARD A. E., NOSSAL G. J. V., MAZIE J. C., LEWIS H., 1970, J. exp. Med., *131*, 917.

CALDERON J., UNANUE E. R., 1975, Nature, *253*, 359. CANTOR H., ASOFSKY R., 1970, J. exp. Med., *131*, 235. CANTOR H., BOYSE E. A., 1975, J. exp. Med., *141*, 1370 şi 1390. CANTOR H., WEISSMANN I., 1976, Progr. Allergy, *20*, 1. CEPPELLINI R., BONNARD G. D., COPPO F. şi colab., 1971, Transpl. Proc., *3*, 58. CEROTTINI J. C., BRUNNER K. T., 1977, în *Band T cells in immune recognition*, sub red. F. LOOR şi G. E. ROELANTS, J. Wiley a. Sons, Chichester, p. 319. CHUSED T. M., KASSAN S. S., MOSIER D. E., 1976, J. Immunol., *116*, 1579. CLAMAN N. H., CHAPERON E. A., TRIPLETT R. F., 1966, Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.), *122*, 1167. COLTEN H. R., 1977, Progr. Immunol., *2*, 183 ; 1976, Adv. Immunol., *22*, 67. COOPETR H. L., 1977, în *Regulatory mechanisms in lymphocyte activation*, sub red. D. O. LUCAS, Academic Press, New York, p. 94.

DAVID J. R., 1975, Federation Proc., *34*, 1 730 DE SOUSA M., 1973, Contemp. Topics Immunobiol., *2*, 119. DINGLE J. T., JACQUES P. J., SHAW I. H., 1979, *Lysosomes in applied biology and therapeutics*, North-Holland, Amsterdam. DORE J. F., KOURILSKY F. M., 1974, în *Present problems in haematology*, Excerpta Medica Publ. House, Amsterdam, p. 59, DU PASQU IER L., 1966, în *The immune system*, sub red. F. MELCHERS şi K. RAJEWSKY, Springer, Berlin— Heidelberg— New York, p. 101. DUKOR P., HARTMAN K. U., 1973, Cell. Immunol., *7*, 349.

EDELMAN G. M., 1973, Science, *180*, 830. ERB P., FELDMANN M., 1975, Cell. Immunol., *19*, 356 ; Nature, *254*, 352 ; J. exp. Med., *142*, 460 ; Europ. J. Immunol., *5*, 759. EVANS R., GRANT C. K., COX H., STEELE K., ALEXANDER P., 1972, J. exp. Med., *136*, 1318.

FELDMANN M., 1972, J. exp. Med., *136*, 737. FELDMANN M., BASTEN A., 1972, Nature New Biol., *237*, 13. FOURGEREAU M., BOURGOIS A., DE PREVAL C., 1976, Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), *127 C*, 607. FUNDERBURGH J., VASSALLI P., MACH B., 1974, Experientia(Basel), *30*, 720.

Gally J. A., Edelman G. M., 1970, Nature, *227*, 341 ; 1972, Ann. Rev. Genet., *6*,1. Gery I., Handschumacher R. E., 1974, Cell. Immunol. *11*, 162. Gheție V., 1975, în *Imunobio-logie, imunochimie, imunopatologie*, sub red. I. Mesrobeanu și Șt. Berceanu, Edit. Academiei, București, p. 91 ; 1977, *Semnale și receptori în imunologie*, Edit. științifică și enciclopedică, București. Gheție V., Sjöquist J., 1975, J. Immunol., *115*, 659. Gill T. J., Cramer D. V., Kunz H. W., 1978, Am. J. Pathol., *90*, 737. Gisler R. H., Vischer T. L., Dukor P., 1976, J. Immunol., *116*, 1357. Gottlieb A. A., 1968, în *Nucleic acid in immunology*, sub red. O. J., Plescis și W. Braun, Springer Verlag, New York, p. 471. Greenberg A. H., Wolosin L B., 1977, Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), *128 C*, 485.

Hardy W. D., Hess P. W., Mac Ewen E. G., 1976, Cancer Res., *36*, 582. Hellström I,. Hellström K. E., 1972, Transpl. Proc., *4*, 369. Herzenberg L.A., Okunurra K., Cantor H. et al., 1976, J. exp. Med., *144*, 330. Holm G., Perlman P., 1969, Antibiot. Chemother., *15*, 295. Hoover R. N., 1976, Cancer Res. *36*, 652. Huebner R. J., Gilden R. V., Lane W. T., 1976, Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.), *73*, 620.

Ishizaka K., 1971, în *Immunobiology*, sub red. R. A. Good și D. W. Fisher, Sinauer Stanford-California, p. 84.

Jachertz D., 1971, în *The role of lymphocytes and macrophages in immunological response*, sub red. D. C. Dumonde, Springer, Berlin, p. 5. Jerne N. K., 1971, Europ. J. Immunol, *1*, 1, 1976, în *The immune system*, sub red. F. Melchers și K. Rajewsky, Springer, Berlin, p. 259. Johansson S. G. O., Bennich H., Berg T., 1972, Progr. Clin. Immunol., *1*, 157. Julius M. H., Simpson E., Herzenberg L. A., 1973, Europ. J. Immunol., *3*, 645.

Kabat E. A., 1976, *Structural concepts in immunology and immunochemistry*, Rinehart-Winston, New York. Kappler J. W., Marrack P. C., 1976, Nature, *262*, 797. Katz D. H. Benacerraf B., 1975, *Immunological tolerance*, Academic Press, New York. Katz D. H., Hamao-ka T., Benacerraf B., 1973, J. exp. Med., *137*, 1 405. Keller H. U., Hess M. W., Cottier H., 1975, Semin. Hematol., *12*, 47. Kermani-Arab V., Leslie G. A., Burger D. R., 1977, în *Regula-tory mechanisms in lymphocyte activation*, sub red. D. O. Lucas, Academic Press New York, p, 701. Killander J., 1967, *Gamma-globulins*, Interscience, New York. Klein G., 1973, în *The-herpes viruses*, sub red. A. S. Kaplan, Academic Press, New York — Londra, p. 521. Klinman N. R., Press J. L., Sigal N. H., Gearthart P. J., 1976, în *Generation of diversity. A new look*, sub red. A. Cunningham, Academic Press, Londra, p. 127.

Lonai P., McDevitt H. O., 1974, J. exp. Med., *122*, 517. Lucan D., Klimpel G., 1977, în *Regulatory mechanisms in lymphocyte activation*, sub red.D. Lucas, Academic Press, New York, p. 76.

Mackaness G. G., 1969, J. exp. Med., *129*, 973. Melchers F., Cone R. E., Van Boehmer H., Sprent J., 1975, Europ. J. Immunol., *5*, 382. Mesrobeanu L., Paunescu Eug., 1960, *Fizio-logie bacteriană*, Edit. Academiei, București ; 1968, în *Imunologie, și imunopatologie*, sub red. I. Mesrobeanu și Șt. Berceanu, Edit. medicală, București ; 1975, în *Imunobiologie, imunochi-mie, imunopatologie*, Edit. Academiei, București, p. 49. Milstein C., 1967, Nature, *216*, 330. Milstein C., Brownlee G. G., Cartwright E. M., 1974, Nature, *252*, 354. Milstein C., Brown-lee G. G., Cheng C. C., 1976, în *The immune system*, sub red. F. Melchers și K. Rajewsky, Springer, Berlin, p. 75. Mitchison N. A., 1971, Europ. J. Immunol., *1*, 18 ; 1964, Proc. Roy. Soc. Med., *161*, 275. Moller G., 1975, Transpl. Rev., *23*, 126 și *26*, 1 ; 1976, Transpl. Rev., *32*, 1 ; 1976, în *The immune system*, sub red. F. Melchers și K. RAJEWSKY, Springer, Berlin, p. 116. Moore D. H., Charney J., Kramarsky B., 1971, Nature, *229*, 611. Mosier D. E., 1967, Science. *158*, 1573. Munro A. J., Taussic M., 1975, Nature, *256*, 103. Murphy D. B. Herzenberg L. A., Oku-mura K., Mcdevit H. O., 1976, J. exp. Med., *144*. 699.

Osmond D. G., Nossal G. J. V., 1974, Cell. Immunol., *13*, 132. Oudin J., Michel M., 1969, J. exp. Med., *130*, 595 și 619.

Păunescu Eug., 1965, Microbiol., Epidemiol., Parazitol., *15*, 314 ; 1968, în *Imunologie și imunopatologie*, sub red. I. Mesrobeanu și Șt. Berceanu, Edit., medicală, București, p. 242 și 293 ; 1970, Nature (London), *228*, 1 188 ; 1972, Ftiziologia, *21*, 449 ; 1975, în *Imunologie, imu-nochimie, imunopatologie*, sub red. I. Mesrobeanu și Șt. Berceanu, Edit. Academiei, București. p. 29, 123, 141, 150, 177 ; 1980, Rev. roum. Biochim., *17*, 222. 1980, 12th National Conference of, Tuberculosis, București, USSM, p. 74—78. Păunescu Eug., Dănălache-Dumitrescu M., 1976, Rev. roum. Biochim., *13*, 131. Păunescu Eug., Dănălache-Dumitrescu M., Burnea D., Stoi-cescu P., Kercea V., Daniello I., 1979, Probl. tuberc., *15*, 253. Păunescu Eug., Hadârcă E., 1964, Rev. roum. Biochim., *1*, 183 și 259. Păunescu Eug., Mușățeanu R., 1971, Ftiziologia, *20* (suppl.), 41. Păunescu Eug., Zaharescu C., Mușățeanu R., Dănălache-Dumitrescu M.,

VASILE D., 1977, Probl. tuberc., *14*, 171. PEPYS M. B., 1978, Rev. fr. Mal. Resp., *6*, 11. POTTER M., PADLAN E., RUDIKOFF S., 1976, J. Immunol., *116*, 123. PORTER R. R., 1973, Science, *180*, 713. POLJAK R. J., 1972, Nature, *235*, 137. PREVAL C., FOURGEREAU M., 1972, Europ. J., Biochim., *24*, 446.

RANNEY D. F., 1977, în *Regulatory mechanisms in lymphocyte activation*, sub red. D. O. LUCAS, Academic Press, New York, p. 3. RESCH K., 1976, în *Receptors and recognition*, sub red. P. CUATRECASAS şi M. F. GREAVES Chapman-Hall, Londra, seria A, vol. I, p. 60. RITTER J., LOHMANN-MATTHES M. L., SONNTAG H. G., FISCHER H., 1975, Cell. Immunol., *16*, 153. ROSENTHAL A.S., LIPSKY P. E., SHEVACH E. M., 1975, Federation Proc., *34*, 1 743 ; 1973 J. exp. Med., *138*, 1 194. ROSENSTREICH D. L., OPPENHEIM J. J., 1976, *Immunobiology of the macrophage*, Academic Press, New York. ROOT R. K., METCALF J. A., 1977, J. Clin. Invest., *60*, 1 266.

SCHLOSSMAN S. F., 1972, Transpl. Rev., *10*, 97. SCHRADER J. W., 1973, J. exp. Med., *138*, 1 466. SELA M., 1974, *The antigens*, Academic Press, New York. SHEARER G. M., LOZNER E. C., REHN T. G., SCHMITT-VERHULST A. M., 1975, J. exp. Med., *141*, 930. SPECTOR W. G., 1967, Brit. Med. Bull., *23*, 35. STOMINGER J. L., MANN D. L., PARHAM P., ROBB R., SPRINGER T., TERHORST C., 1977, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., *41*, 323. SVEJGAARD A., RYDER L. P., 1976, Lancet, *2*, 547.

TAKEMORI T., TADA T., 1975, J. exp. Med., *142*, TAUSSIG M. J., MUNRO A. J., 1976, Federation Proc., *35*, 2 061. TEMIN H. M., MIZUTANI S., 1970, Nature, *226*, 1 211. THOMAS D. W., YAMASHITA U., SHEVACH E. M., 1977, J. Immunol., *35*, 97. THOMAS J. A., 1949, Rev. Hémat., *4*, 639.- TONEGAWA S., 1976, Proc. Natl. Acad. Aci. U.S., *73*, 203. TONEGAWA S., HOZUMI N., 1976, în *The immune system*, sub red. F. MELCHERS şi K. RAJEWSKY, Springer, Berlin, p. 86. TÜRK J. L., 1967, Brit. Med. Bull., *23*, 3.

UNANUE E. R., 1970, J. Immunol., *103*, 150. UNANUE E. R., CALDERON J., 1975, Federation Proc., *34*, 1737. UNANUE E. R., CERROTTINI J. C., 1975, Sem. Hemat., *7*, 225.

VAN FURTH R., 1970, *Mononuclear phagocytes*. Blackwell Scient. Press, Oxford ; 1975 *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology*, Blackwell Scient., Oxford. VAN FURTH R., COHN Z.A., HIRSCH J. G., HUMPHREY J. H., SPECTOR W. G., LANGEVOORT H. L., 1972, Bull. Wld. Hlth. Org., *46*, 845. VITETTA E. S., UHR J. W., 1973, Transpl. Rev., *14*, 50. VOISIN G. A., 1971, Cell. Immunol., *2*, 670.

WAGNER H., FELDMANN M., BOYLE W., SCHRADER J. W., 1972, J. exp. Med., *136*, 331. WAHL S. M., WILTON J. M., ROSENSTREICH D. L., OPPENHEIM J. J., 1975, J. Immunol., *114*, 1 296. WEIR D. M., 1973, *Handbook of experimental immunology*, Blackwell Scient., Oxford. WIGZELL H., 1976, în *The immune system*, sub red. F. MELCHERS şi K. RAJEWSKY Springer, Berlin —Heildelberg—New York, p. 131. WOOD D. D., 1977, în *Regulatory mechanisms in lymphocyte activation*, sub red. D.O. LUCAS, Academic Press, New York— San Francisco— Londra, p. 117.

ZEMBALA M., ASHERSON G. L., 1974, Europ. J. Immunol., *4*, 799. ZIGMOND S. H., 1974, Nature, *249*, 450. ZINKERNAGEL R. M., CALLAHAN G. N., KLEIN J., DENNERT G., 1978, Nature, *271*, 251.

11 — c. 825 39

Partea a doua

PATOLOGIA IMUNITĂȚII

prof. dr. doc. ȘT. BERCEANU

IV

Concepții actuale asupra patologiei imunității

A. *Conceptul de ,,sistem celular al imunității'' ca bază a înțelegerii patologiei imunității*

Termenul de ,,sistem celular al imunității'' (SCI) apare în literatura română medicală în lucrarea ,,Imunobiologie, imunochimie, imunopatologie'', urmărind să cuprindă elementele celulare funcționale care cooperează în răspunsul imunologic (Berceanu, 1975). În ultimii 4 ani, în literatura internațională de imunologie s-a introdus termenul simplificat de ,,sistem imun'' (SI), așa cum este folosit și în prima partea a acestei monografii. Deosebirea de conținut între cei doi termeni este că, în timp ce în SCI la cooperarea pentru răspunsul imun celulele imunocompetente sînt considerate pe primul plan, în SI se admite că, pe lîngă factorii celulari, răspunsul imun este determinat, în toate cazurile, și de factori solubili (Ig, mediatori, limfokine, monokine etc.) secretați de celulele imunologice în cursul reacției la antigen. La aceștia se mai adaugă alți factori umorali, pre-existenți, cum este complementul, precum și factori naturali, integrabili în conceptul clasic de opsonine și cu participare selectivă în procesele de apărarea antimicrobiană.

Componența sistemului poate fi încă lărgită dacă legăm răspunsul imun și de factorii coordonatori genetici și de cei de autoreglare, inclusiv consecințele umorale și celulare care apar după un răspuns imun eficient. Sînt astfel incluse în SI regiunea Ir asociată sistemului major de histocompatibilitate (MHS) (v. cap. I, E), idio — și alotipurile (v. cap. I, C2), precum și anticorpii lor (v. cap. II, E1); se includ de asemenea fenomenele de memorie imunologică și procesele legate de toleranța imună (v. cap. III, H) și poate chiar procesul de ,,supraveghere imună anticanceroasă''. Această concepție largă și unitară îndreptățește termenul de SI, care este mai complet decît cel de SCI, ca sistem limitat la răspunsul imun față de antigenele nonself, așa cum a fost conceput de noi inițial. Termenul creat de Jerne (1974, 1976) de ,,rețea imunologică'' este de asemenea îndreptățit, chiar dacă unele dintre componentele sale sînt încă ipotetice sau cel puțin incomplet dovedite (v. cap. I, C2).

Interpretarea și cuprinderea sintetică a datelor actuale de imunologie fundamentală sînt necesare atît pentru imunologul cercetător, cît și pentru clinicianul din aproape toate specialitățile medicale. Nu există disciplină clinică care să nu aibă domenii unde se recunosc dereglări imune care stau la baza patogeniei lor, cel puțin în anumite perioade de evoluție. În afară de patologia genetică, în multe afecțiuni dobîndite, acute sau cronice, înlănțuirea proceselor patologice celulare și umorale sînt condiționate de alterarea uneia sau mai multor laturi din rețeaua complexă a SI.

Dezvoltarea imunologiei fundamentale din ultimii 4—5 ani este bazată pe cercetări experimentale, iar cunoştinţele actuale se referă mai ales la procese de reglare biologică a imunităţii la animale. Studiul concomitent al unor afecţiuni şi sindroame imunologice la om a modelat adevărate „experimente ale naturii" prin care a fost posibilă dobîndirea de noi cunoştinţe fundamentale (Good, 1976). Este sigur că modelele umane de boli prin deficit imun, de boli autoimune, nu au putut fi reproduse tipic în patologia experimentală, cu toată ingeniozitatea cercetătorilor. Au fost reproduse însă fenomene şi procese importante care stau la baza patologiei clinice şi de care practicianul trebuie să ţină seama în orice cercetare de imunologie clinică şi chiar în metodologia de diagnostic şi de tratament al bolilor imune la om. La o verificare practică a cunoştinţelor teoretice este însă posibil ca multe modele experimentale să nu reprezinte aspectele bine conturate de patologie clinică, astfel că experimentul naturii rămîne în continuare cel mai preţios şi mai util.

În capitolele de patologie generală şi specială ce vor fi abordate în continuare se vor folosi şi cunoştinţele şi modelele din patologia experimentală pentru abordarea proceselor de patologie clinică în vederea dezvoltării gîndirii şi responsabilităţii clinicianului. Se va preciza în ce măsură un proces patologic care determină o boală umană este de natură imunologică şi care investigaţii imunologice pot să conducă la un diagnostic de boală imunologică. Folosirea datelor de imunologie şi imunopatologie privind reţeaua complexă a SI necesită cunoştinţe temeinice, bine verificate şi bine delimitate, în relaţia lor cu homeostazia organismului uman, în care imunitatea joacă un rol primordial. În acest sens se vor selecta şi sistematiza cîteva din cunoştinţele de bază de imunologie normală dezvoltate în partea I, pentru a fi posibilă abordarea patologiei imunităţii în general, elaborarea unei clasificări a bolilor imune şi delimitarea trăsăturilor esenţiale ale grupelor importante de boli imunologice. Se vor folosi anumite noţiuni şi termeni care reprezintă fenomene şi procese necesare pentru funcţionarea aparatului imunologic la nivel celular şi umoral, genetic şi epigenetic. Se va preciza ceea ce este cunoscut în modalităţile şi căile de alterare a factorilor şi structurilor imune (Berceanu, 1971), pentru a se determina procesele patologice ce caracterizează anumite boli imune. Tot această analiză a căilor de alterare a structurilor SCI va sta la baza selectării metodelor de diagnostic şi a posibilităţilor actuale de terapie. Nu intră în obiectivele lucrării prezente descrierea simptomelor clinice şi metodelor terapeutice ale bolilor şi sindroamelor imunologice, ci numai de a clasifica cadrul fundamental care să constituie un ghid pentru practica clinică.

B. *Structura funcţională specială a SI şi patologia imună clinică*

Sintetizînd datele actuale de imunologie normală, SCI se poate reprezenta în schema răspunsului imun normal (fig. 17) cu conexiunile şi factorii celulari şi umorali a căror alterare determină grupele mari de boli imune

întîlnite în clinica umană. Schema prezentată completează pe cele elaborate mai înainte (Berceanu, 1968, 1971, 1975, 1977), ca rezultat al analizelor aprofundate ale cercetărilor de imunologie recente, la care s-a ajuns printr-o avalanșă de lucrări experimentale și clinice, sintetizate și în unele manuale și monografii recente (Miescher, 1976; Jäger, 1976; Halbarow și Reed, 1977; Cohen și colab., 1979 etc.).

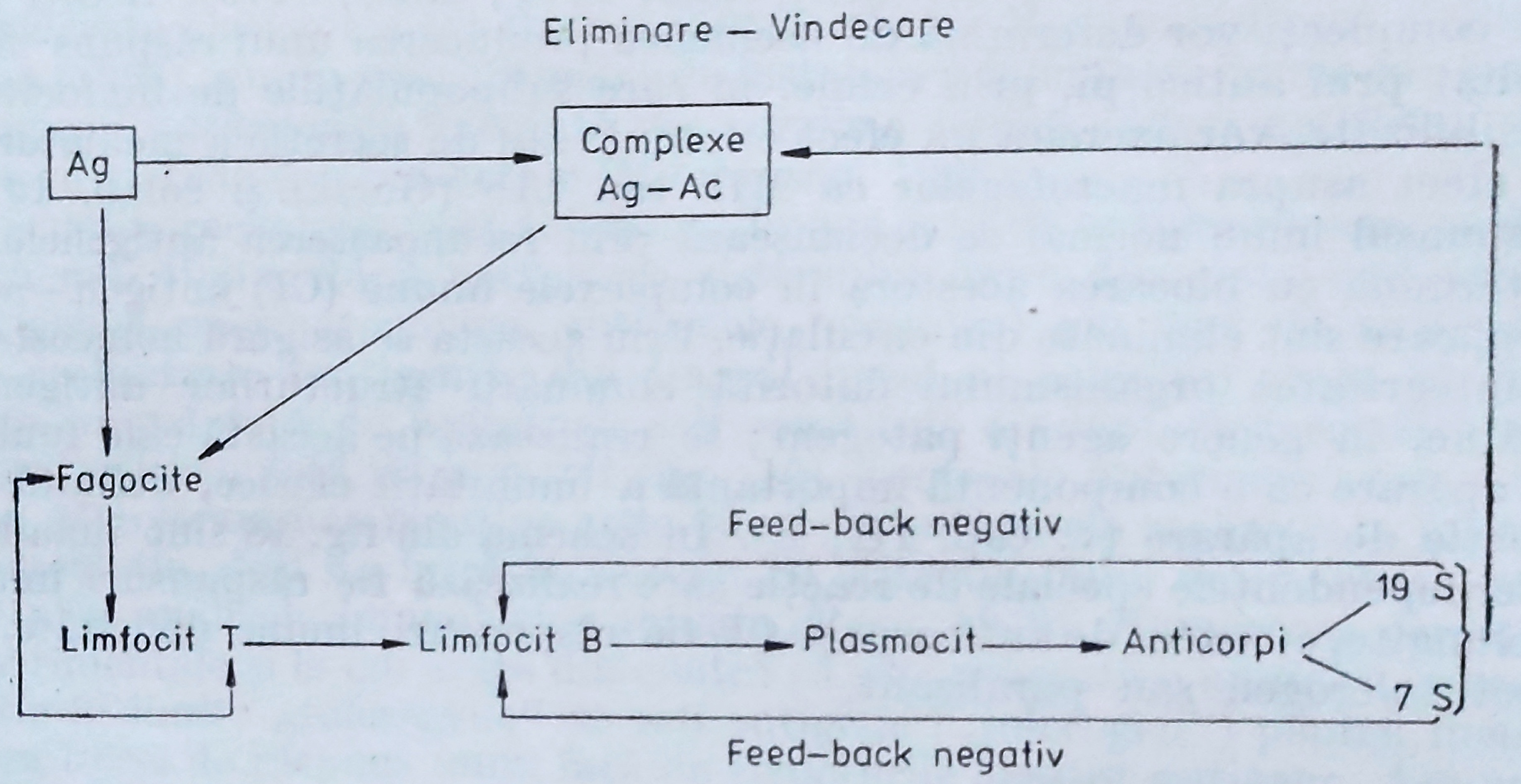


Fig. 17. — Schema răspunsului imun primar cu cooperarea celulelor imune și sistemele cibernetice de autoreglare (după Berceanu, 1975).

De remarcat că schema noastră cuprinde acei factori celulari care cooperează în răspunsul imun eficient: macrofagul, sistemul de celule T, sistemul de celule B și plasmocitul. Există conexiuni directe de stimulare și există feed-back-uri negative sau pozitive care declanșează și autoreglează în limite fiziologice pentru un răspuns imun eficient, evaluabil după rezultatele sale: *1)* secreția de imunoglobuline anticorpi; *2)* formarea de complexe imune antigen — anticorp; *3)* fenomenul de clearance prin macrofage al antigenelor și al complexelor imune antigen — anticorp — complement; *4)* instalarea memoriei imunologice, ca informație imună stocată în sistemul de celule T și B, care vor putea declanșa astfel rapid un răspuns imun secundar față de o nouă stimulare antigenică. Ceea ce apare nou în schema actuală este diversificarea sistemului T în subpopulații cu funcții bine definite de Th, Ts, Tk[42]. Aceste subpopulații din sistemul T stau la baza răspunsului imun prin procese de stimulare sau de inhibiție specifică a limfocitelor B, care prin transformare în plasmocite vor secreta anticorpi specifici, aparținînd unor clase diferite de imunoglobuline (v. cap. II E 3), capabile să blocheze antigenele circulante.

S-au arătat în cap. II modalitățile de reacție celulă — celulă sau prin secreție de limfokine în cooperările Th — Ts și Tk, precum și macrofag — T și macrofag — B și, invers, T — macrofag. Limfocitul B va răspunde prin secreție de anticorpi la activarea sa prin Th și prin sistarea secreției anti-

[42] Th — celulă T-helper; Ts — T-supresor; Tk — T-killer (v. cap. II, A).

corpice la activarea prin Ts. Este foarte posibil ca efectele asupra lui B să se producă și prin reacția Ts — Th și invers, predominanța primului termen suprimînd efectul stimulator al lui Th, iar predominanța acestuia din urmă diminuînd efectul inhibitor al lui Ts.

Rolul complexelor imune, al tipului de anticorpi, al cantității, căilor de administrare, naturii și duratei de acțiune a antigenului vor determina intensitatea, durata răspunsului, precum și efectul tolerogen și paralizant al antigenului (Mitchinson, 1968; Katz, 1974; Rose, 1979). Acești factori complecși vor determina de asemenea producerea unui răspuns imun mediat prin anticorpi, prin celule, în care subpopulațiile de limfocite T sensibilizate, vor exercita un efect citotoxic sau de secreție a mediatorilor cu efect asupra macrofagelor ca MIF sau LIF (Gorski și colab., 1977). Răspunsul imun normal se declanșează prin recunoașterea antigenelor și se termină cu blocarea acestora în complexele imune (CI) antigen—anticorp, care sînt eliminate din circulație. Prin aceasta se asigură homeostazia și integritatea organismului datorită eliminării structurilor antigenice străine, în genere agenți patogeni; se realizează pe această cale funcția de apărare ca o componentă importantă a imunității clasice, definită ca funcție de apărare (v. cap. III, E). În schema din fig. 18 sînt detaliate interdependențele speciale de reacție care realizează fie răspunsuri imune prelungite, cu exces de anticorpi și CI, fie răspunsuri imune deficitare, cu efect tolerogen sau paralizant.

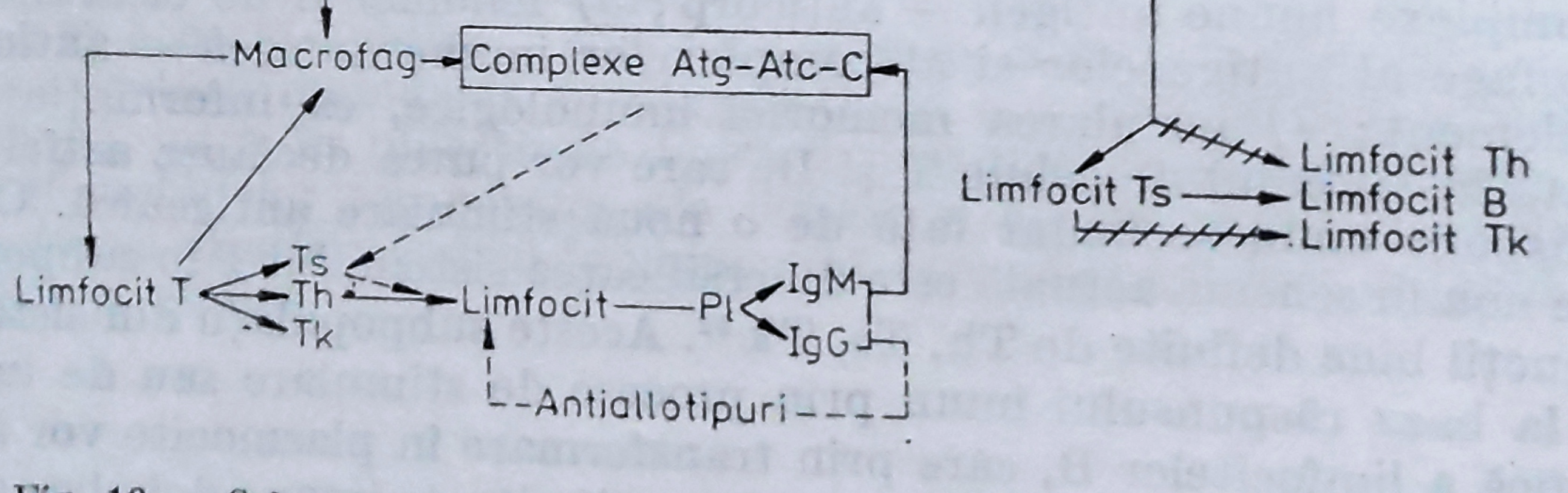


Fig. 18. — **Schema conexiunilor răspunsului imun și a toleranței imunologice înnăscute.**

Date mai recente introduc în sistemul de control pentru sistarea răspunsului imun și sistemele de idiotipuri și anti-idiotipuri, de deosebită importanță biologică în sistemul de rețea imunologică a lui Jerne (1976). Nu există încă date care să dovedească rolul sistemelor idiotip — anti-idiotip în dereglările sistemului imun; este însă de presupus un rol al

lor atît în sindroamele de deficit imun (exces de reacție anti-idiotip), cît și în bolile prin CI cu exces în formarea anticorpilor (deficit în producerea de anti-idiotipuri).

◆

Sistemul imun conceput unitar, ca substrat celular și molecular al funcției imune generale, cuprinde pe lîngă funcția de răspuns imun față de nonself și funcția de *toleranță imună* (v. cap. III, H). Se cunosc teoriile considerate clasice ale lui Burnet (1959), ale lui Medawar, Brent și Billingham (1956) asupra mecanismelor de instalare a toleranței imune *înnăscute*, precum și a stărilor de toleranță sau paralizie imună *induse* artificial, prin diverse metode experimentale (Mitchinson, 1968).

Studiile recente asupra toleranței imune față de antigenele care se dezvoltă mai tîrziu, după maturarea sistemului imun din viața embrionară (antigenele spermatogonice, antigenele mielinice) sau față de antigenele zise sechestrate (antigenele din tractul uveal al ochiului) arată că toleranța imună față de antigenele self constituie o adaptare specială a răspunsului imun față de non-self (fig. 19). Ipotezele anterioare care susțineau că toleranța se menține atîta timp cît antigenele sechestrate nu trec în circulație, deci nu intră în contact cu sistemul imun activ, nu se verifică prin analizele imunologice actuale (Rose, 1979). Numeroase cercetări experimentale și la om arată din contră că este necesară o anumită concentrație în limite „tolerogene" de self-antigene („tolerogen") pentru menținerea lipsei de răspuns imun față de structurile acestor antigene. Așa cum se arată în fig. 19, o anumită concentrație de antigene menține active limfocitele Ts specifice față de aceste antigene, astfel că celulele B nu declanșează un răspuns imun prin autoanticorpi. Se poate astfel reactualiza teoria clonelor interzise ale lui Burnet (1959), reluată de Nossal (1975), dacă acceptăm că masa de celule B inactive față de antigenele self sînt clone „interzise" sau clone „în deleție". Există însă cercetări care dovedesc și alte modalități de a inhiba răspunsul imun față de nonself. După Dayle și Weigle (1979), pe baza analizei modelelor experimentale de răspuns tolerogen față de self și non-self, toleranța imunologică înnăscută sau dobîndită este posibilă prin trei modalități : (*1*) blocaj prin exces de antigene ; (*2*) predominanță funcțională a subpopulației de limfocite Ts ; (*3*) fenomenul de deleție clonală.

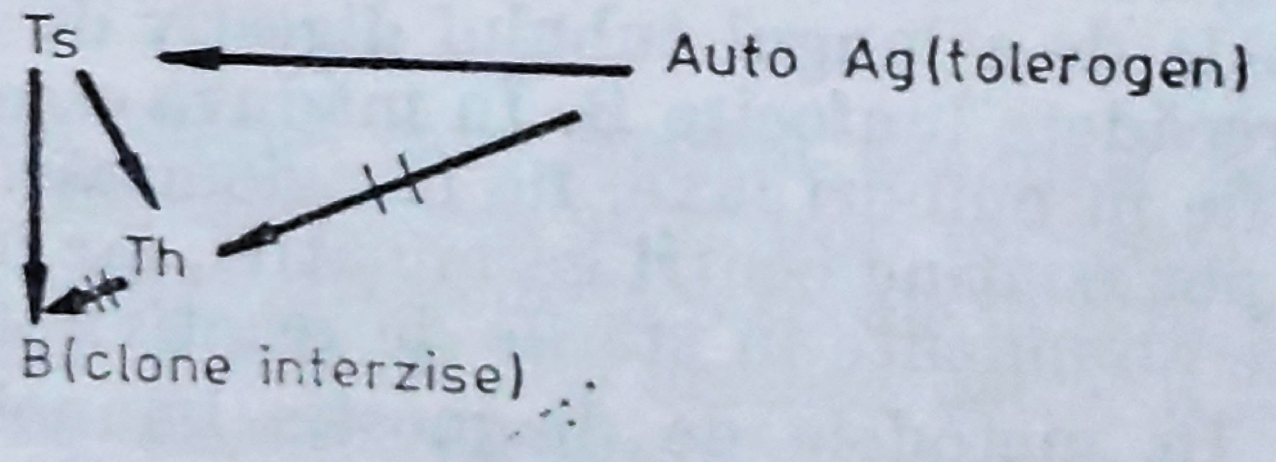


Fig. 19. — Schema menținerii toleranței prin anularea de răspuns autoanticorpic în cooperarea Ts cu clonele B în deleție.

De remarcat că, prin această ipoteză, dificultățile pentru explicarea toleranței înnăscute față de self sînt înlăturate prin rezultatele cercetărilor asupra răspunsului imun față de nonself, adaptabile prin alte modele și la toleranța față de nonself. Cele două aspecte ale răspunsului imun sînt astfel asemănătoare în ceea ce privește structurile celulare și cooperarea lor. În răspunsul imun față de non-self condițiile homeostatice de adaptare la antigenele străine determină o predominanță a funcției de stimulare prin

limfocitele Th (fig. 18). În toleranţa imunologică, condiţiile adaptative filogenetice şi ontogenetice fac să predomine funcţiile limfocitului Ts, care blochează răspunsul limfocitelor B, capabile să secrete autoanticorpi.

Dereglările homeostatice imune într-o ramură pot să determine un deficit funcţional în prima, ducînd la instalarea bolilor prin deficit imun. Dereglarea în ramura a doua face să scadă toleranţa imunologică şi astfel masa de celule B (clonele interzise) va produce autoanticorpi.

Schemele astfel simplificate constituie o sinteză a numeroaselor cercetări actuale, multe dintre ele în aparenţă contradictorii, după diversitatea posibilităţilor de modelare experimentală. Ele conturează sistemele structurale imune a căror dereglare dă o explicaţie suficientă pentru clasificarea sindroamelor şi bolilor clinice imunologice la om. Tot ele permit orientarea în posibilitatea de explorare celulară şi umorală pentru diagnosticul unei boli imune, precum şi în alegerea unui tratament pe baze biologice, cu promiţătoare progrese în perspectivă.

C. *Conexiuni ierarhice de comandă în SI*

Sistemul de celule care constituie SI formează substratul morfologic denumit anterior ca SCI (Berceanu, 1975, 1977). Repartizarea în ţesuturile imunologice a celulelor cu structură funcţională diferită este organizată după o ierarhie genetică şi embrionară, în care se disting (fig. 20) : *organe centrale de comandă* — timusul, bursa lui Fabricius (la păsări) şi măduva osoasă, precum şi ţesuturile considerate la mamifere ca echivalente ale bursei lui Fabricius, sistemul limfoid al tubului digestiv ; *organele periferice comandate* — ganglionii limfatici, splina şi unele formaţiuni limfoide de-a lungul tubului digestiv.

Sistemul limfoid are ca structură funcţională de bază ganglionul limfatic care conţine în foliculii limfatici corticali limfocite B şi în zonele paracorticale limfocite T (fig. 21); această diferenţiere funcţională topografică conţine în centrii germinativi ai foliculilor limfatici celulele germinative, *centroblaştii* şi celulele limfoide mature, *centrocitele* (Lennert, 1978 ; Lukes şi Collin, 1974). În splină, limfocitele T sînt dispuse în tecile perivasculare, iar limfocitele B în foliculii limfatici periarteriolari. Formaţiunile limfoide de-a lungul tubului digestiv de la amigdale la apendice, conţin cu precădere limfocite B. În măduva osoasă predomină limfocitele B, aşezate fie în cuiburi laxe, fie în aglomerări cu caracter de foliculi limfatici, care pot conţine centri germinativi, iar în jurul lor straturi de plasmocite, foarte abundente în stările de reactivitate imună sau autoimună.

În metodele de diagnostic imunologic examenele morfopatologice ale structurilor tisulare imune şi analiza funcţională a celulelor limfoide T şi B constituie acum metode curente de investigaţie, alături de multiplele investigaţii serologice.

Întregul sistem imunologic, ierarhizat în organe limfoide centrale şi periferice şi componente imune umorale, este coordonat de genele cromosomiale, cu localizare legată de aceea a complexului major de histocompatibilitate (MHC). În cap. I,E s-au descris funcţionarea acestui sistem şi impor-

tanţa sa în reglarea şi dereglarea imunităţii. Coordonarea genică se exercită mai ales asupra antigenelor de suprafaţă în sistemele HLA şi sistemul D şi a receptorilor care reglează cooperarea imună în recunoaşterea şi reacţia faţă de antigene a sistemelor limfocitare Th, Ts, macrofage şi sistemul B. Prin cercetări *in vitro* şi *in vivo* s-a dovedit că răspunsul imun nu este posi-

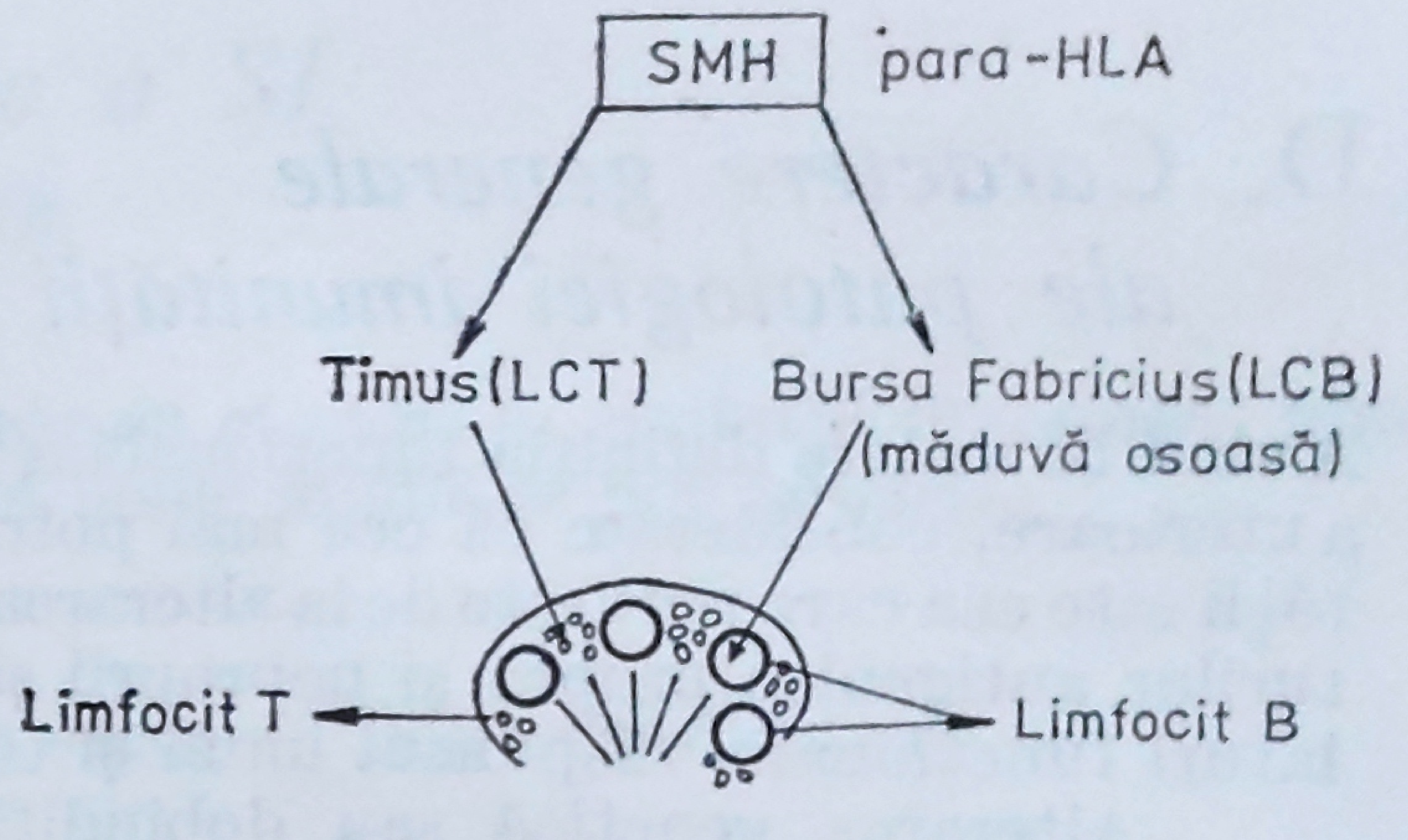


Fig. 20. — Schema ierarhiei organelor limfoide centrale şi periferice sub comandă genetică para—HLA.

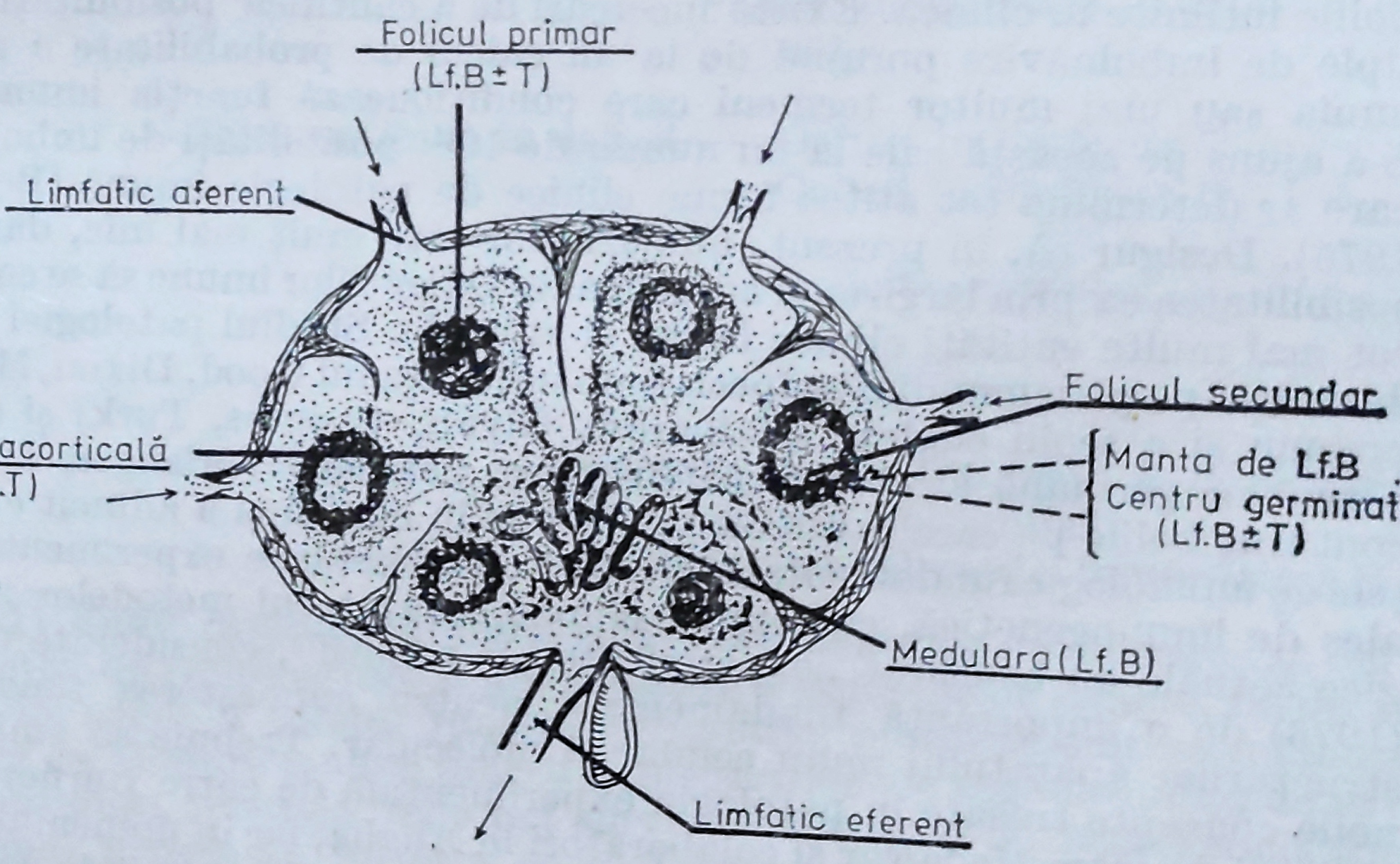


Fig. 21. — Structura funcţională a ganglionului limfatic (modificat după Gutman şi Weissman, 1972).

bil decît prin cooperarea celulelor imune care aparţin aceluiaşi fenotip în sistemul HLA (v. cap. LI, C). Recunoaşterea anumitor antigene, toleranţa faţă de ele, ca şi răspunsul imun variază de la o specie la alta, iar în cadrul speciei umane de la individ la individ. Se creează astfel o determinantă genetică fenotipică pentru eficienţa răspunsului imun sau pentru predispoziţia la anumite boli imunologice.

Se poate conchide, pentru abordarea patologiei imune în capitolele următoare, că SCI cuprinde un sistem de celule cu funcţii imunologice diferite care cooperează permanent în răspunsul imun şi în toleranţa imunologică, după o dependenţă genetică legată de structura antigenelor de transplantare. Eficienţa răspunsului imun este rezultatul cooperărilor celulelor cu funcţii imune şi al produselor lor funcţionale, limfokinele şi

imunoglobulinele care se autoreglează într-un sistem cibernetic prin conexiuni directe şi prin feed-back-uri pozitive şi negative. Interrelaţia lor este legată de comanda genetică de care depinde modul specific de reacţie imună printr-un program care asigură integritatea organismului prin eliminarea nonself-ului şi conservarea structurilor self.

D. *Caractere generale ale patologiei imunităţii*

Avînd în vedere definiţia funcţională a imunităţii şi a SI, ca şi în lucrările anterioare, considerăm că cea mai potrivită abordare a patologiei imunităţii este cea care porneşte de la alterarea funcţiilor SI : recunoaşterea structurilor antigenice proprii şi neproprii şi prin aceasta alterarea celor două laturi funcţionale, răspunsul imun şi toleranţa imună.

Alterarea genetică sau dobîndită a SI determină sindroamele şi bolile întîlnite în clinică. Există încercări de a cantifica posibilităţile multiple de îmbolnăvire pornind de la un calcul de probabilitate a alterării unuia sau mai multor termeni care condiţionează funcţia imunologică. S-a ajuns pe această cale la un număr de 10^{11} posibilităţi de îmbolnăvire, care ar determina tot atîtea forme clinice de patologie imună (Berceanu, 1975). Desigur că, în prezent, numărul lor este mult mai mic, dar există posibilitatea ca prin lărgirea şi adîncirea investigaţiilor imune să se contureze tot mai multe entităţi clinice la om şi animale. Studiul patologiei umane, dezvoltat pe plan mondial în special sub influenţa lui Good, Dixon, Miescher, precum şi a şcolii engleze (Halborow, Glynn, Coombs, Turk) şi anterior a şcolilor germană şi elveţiană (Brunner, Cerotini, Vorlenger, Hitzig), a conturat bolile pe care le cunoaştem astăzi în clinică şi a adîncit cunoştinţele de imunologie fundamentală. Paralel cu cercetările experimentale, mai ales de imunogenetică, cercetările clinice cu ajutorul metodelor imunologice actuale au conturat „experimente ale naturii", considerate de Good (1976) de o importanţă fundamentală pentru cunoaşterea funcţiilor şi structurilor aparatului imun celular şi molecular. Trebuie să amintim că noile concepte trasate în patologia experimentală de către Burnet în Australia şi de către Medawar şi colaboratori în Anglia, iar în domeniul codului genetic de către Monod şi Jacob în Franţa, au constituit linii de dezvoltare şi pentru cercetările clinice. În pofida unor discuţii controversate recente privind valabilitatea în clinică a datelor de imunologie fundamentală (Good, 1976), legătura dintre imunologia experimentală şi cea clinică este calea cea mai preţioasă pentru a se ajunge la cunoştinţe obiective de imunologie fundamentală cu implicaţii în clinica umană.

La noi în ţară cercetările clinice cu implicaţii teoretice şi practice au început încă acum 25 de ani în Institutul Dr. Cantacuzino şi clinicile medicale (Bruckner, Berceanu, Ciobanu, Fodor, Purice etc.). În ultimii 10—15 ani se poate spune că în ţara noastră a pătruns o linie de gîndire imunologică în multe specialităţi medicale clinice, cu rezultate foarte preţioase în diagnosticul şi tratamentul multor afecţiuni acute şi cronice cu caracter de autoîntreţinere, considerate ca boli ale sistemului imunitar. În cadrul

acestora trebuie adăugat domeniul afecțiunilor alergo-anafilactice, bine dezvoltat mai ales prin cercetările lui Radu Păun și I. Gr. Popescu și ale lui Seropian și colaboratori.

E. Căile de îmbolnăvire a SI și clasificarea bolilor

Considerînd SI ca un sistem unitar cu efectori în circuitul funcțional bine delimitat, într-o clasificare simplă bolile imune se pot împărți :

A) *Boli ale răspunsului imun*

— Răspuns imun în exces — Boli anafilactice
— Boli hiperimune (complexe imune)

— Răspuns imun în deficit — Deficit în limfocite T
Deficit în limfocite B
— Deficit complex
— Deficit în sistem macrofagic

B) *Boli ale toleranței imune* — Prin antigene fără toleranță (sechestrate) (tip tiroidită autoimună)
Prin ruperea toleranței imune (tip AHAI)

1) **Bolile răspunsului imun** sînt determinate fie de alterarea în deficit a funcției de recunoaștere și de eliminare a antigenelor străine, fie de alterarea în exces a acestor funcții. Schematic, procesele sînt asemănătoare cu cele de alterare a altor funcții homeostatice ale organismului, de exemplu tensiunea arterială unde pot surveni sindroame fie prin deficit (hipotensiunea arterială), fie prin exces funcțional (hipertensiunea arterială).

Deficitul funcțional a fost recunoscut odată cu descrierea primelor cazuri de agamaglobulinemie, atît în formă simplă, ca boală prin lipsă de anticorpi de tip Barandum, cît și în formă complexă, de tip elvețian, ambele delimitate după 1950. Agamaglobulinemia de tip Barandum este condiționată de deficitul funcțional și cantitativ al limfocitelor B, cu aplasmocitoză tipică și cu deficit de secreție a anticorpilor. Tipul elvețian este determinat de alterarea morfofuncțională concomitentă a sistemelor B și T, ajungîndu-se la alterările importante ale parametrilor imunologici, scăderea de Ig și a masei de limfocite din sîngele periferic și din zonele topografice respective din ganglionii limfatici, măduva osoasă și splină. Este sindromul denumit limfocitoftizie cu deficit global imun, anticorpic și celular, ambele sisteme limfoide T și B fiind deficitare. Complexitatea

acestui sindrom a fost mai bine recunoscută după descrierea deficitului izolat al sistemului T, care apare ca un sindrom de *aplazie timică* (Di George, 1963). Asocierea sindromului Di George cu sindromul de agamaglobulinemie Barandum determină sindromul complex de deficit imun global T şi B, limfocitoftizia totală sau agamaglobulinemia elveţiană cu unele tipuri considerate ca X-linked.

Pornind de la aceste trei tipuri de deficit imun s-au descris şi se descriu aproape în fiecare an noi tipuri rezultate din carenţa umorală sau celulară a factorilor din circuitul imun sau din combinaţia acestora. La capitolul de boli prin deficit imun vor fi conturate formele importante cunoscute cu etiopatogenia lor.

De la început trebuie precizat că fiecare din aceste forme clinice pot fi *genetice* sau *dobîndite*, primare sau secundare. Infecţiile virale, patologia malignă a SCI (limfoamele, mieloamele, leucemiile limfoide) pot să determine sindroame imunologice deficitare fie simple, ca agamaglobulinemia, fie complexe. Condiţiile de îmbolnăvire şi aspectul clinic impun o anumită selecţie a metodelor de investigaţie imunologică, care să permită precizarea alterării de bază şi consecinţele acesteia asupra factorilor imunologici.

Stările de hiperfuncţie a SI au fost conturate iniţial de noi (Berceanu, 1968), ca o necesitate didactică de primă orientare în patologia imună pentru explorarea umorală şi morfologică a unor grupe de boli foarte frecvent întîlnite în clinică. Este vorba de *bolile prin complexe imune* în care sistemul celular imun rămîne într-o stare hiperfuncţională, prelungită uneori pentru toată viaţa. În aceste stări răspunsul imun faţă de nonself este neeficient, în sensul că nu poate să elimine antigenele care au invadat organismul. Prezenţa continuă şi uneori proliferarea antigenelor va menţine un răspuns imun permanent cu hiperplazia generală a SCI; în mod continuu vor fi generate anumite clase de Ig anticorpi, care vor trece în circulaţie şi în contact cu antigenele vor genera CI. Cînd acestea nu pot fi eliminate din organism din cauza unor anumite raporturi de concentraţie antigen-anticorp, are loc precipitarea lor ca macroagregate, care determină leziunile bine cunoscute prin CI.

La înţelegerea mecanismului leziunilor prin CI au contribuit studiile asupra fenomenului Arthus, ca leziune tipică de hipersensibilizare imediată (v. cap. III, B3), în care animalul imunizat cu un antigen răspunde rapid la o nouă injecţie intracutanată de antigen printr-o inflamaţie ; histologic se constată leziuni de endotelită cu citodiabeză de leucocite care dislocă capilarul şi formează o aglomerare perivasculară. Concomitent, prin activarea coagulării, se formează un cheag, care prin obstrucţia vasului poate să determine o ulceraţie locală.

În cap. VI, A vor fi precizate dereglările imune care explică starea de hipersensibilizare a SCI, cu răspuns imun neeficient, însă cu formare de anticorpi şi de CI (fig. 22). Amintim că, încă din 1968, am insistat asupra legăturii dintre starea de deficit imun bazal şi hiperfuncţia imună, cu consecinţele ei lezionale prin CI (fig. 23). În această ipoteză — confirmată de cercetările actuale şi în special de lucrările de după Congresul de imunologie de la Brighton (1974) — un deficit imun global sau selectiv pentru anumite antigene face ca funcţia de clearance prin macrofage a antigenelor şi CI să fie defectivă, astfel că persistenţa acestora generează formarea de noi CI şi menţinerea permanentă a stării de hipersensibilizare. Schema

noastră inițială (1968), elaborată pe baza cunoștințelor imunologice de atunci, poate fi completată prin schema din fig. 24, în care deficitul imun, se explică pe baza interrelațiilor noi care reglează un răspuns imun eficient.

În cadrul bolilor prin exces de răspuns imun am introdus și menținem bolile prin anafilaxie locală sau generală : urticaria, rinita alergică, astmul bronșic și alte echivalențe clinice anafilactice. Alterările din aceste afecțiuni, în care există și o determinantă genetică, sînt tot consecința unei reacții antigen—anticorp însă fără leziuni de tip Arthus, ci cu exsudate rezultate din reacțiile vasomotorii prin eliberare de mediatori chimici de tipul histaminei. Antigenele sînt în general fixate pe anumite țesuturi (mucoasa nazală, derm, hipoderm, mucoasa bronșică), iar anticorpii sînt de tip Iga sau IgE (*reagine*) și se fixează pe antigenele tisulare în reacția de șoc anafilactic local. Consecința reacției este eliberarea de mediatori chimic vasoactivi, care dau fenomenele exsudative urticariene, cutanate sau bronșice. Patogenia dereglărilor este mai complexă, incluzînd alterarea calitativă genetică a sistemului complement și a IgE reaginice. În literatura românească sînt cunoscute lucrările asupra fiziopatologiei clinice a bolilor anafilactice atopice (Popescu, 1968, 1975 ; Păun și Popescu, 1976 ; Seropian, 1977). S-a dovedit însă și în aceste stări o tulburare de deficit imun care condiționează persistența anumitor antigene sensibilizante (Foolfill, 1974).

Am denumit mai demult (Berceanu, 1968) bolile prin exces de răspuns imun ca boli alergo-anafilactice, termen care se poate menține pentru patologia clinică, însă defalcînd atît grupul de boli alergice de hipersensibilizare, care au la bază leziunile prin CI de tip Arthus, cît și grupul bolilor anafilactice propriu-zise ; acestea sînt consecința tulburărilor vasoactive prin mediatori chimici ce se eliberează prin reacția anticorpilor reaginici cu antigenele fixate pe țesuturi. În clasificarea leziunilor imunologice după Gell și Coombs, acestea sînt considerate ca leziuni de tip I, pe cînd cele prin CI ca leziuni de tip III.

Cu toată diversitatea lor, bolile prin exces de răspuns imun cu antigene străine au un mecanism de producere similar. Clinicianul se va orienta pentru o încadrare corectă căutînd să determine natura antigenelor și tipul stării de hipersensibilizare, cu producerea de CI sau de mediatori chimici ; pe cît este posibil, deficitul imun de bază va fi căutat în relația limfocite T — B, în producerea de Ig sau în disfuncția complementului, ceea ce va permite precizarea diagnosticului și a tratamentului profilactic și curativ.

2) **Bolile toleranței imunologice înnăscute**, domeniu foarte larg și polimorf, sînt determinate de alterarea funcțională și structurală a celei de-a doua ramuri a SI.

Alterările toleranței imune înnăscute, funcție care asigură integritatea structurilor celulare și subcelulare proprii, determină grupul mare de boli cunoscute ca *boli autoimune*. Condiții foarte variate produc o dereglare de „absență" a răspunsului imun față de antigenele self, astfel că se instalează în locul toleranței imune un răspuns imun activ, cu producere de anticorpi față de structurile proprii, autoanticorpi. Cum antigenele proprii în aceste condiții patologice declanșează un răspuns imun complet care se autoîntreține, rezultă o sensibilizare a sistemului T, cu acțiune citotoxică, iar prin reacția autoanticorpilor cu autoantigenele se produc CI. Efectul

patologic pe structurile proprii se produce astfel printr-un mecanism dublu, prin acţiunea directă a limfocitelor Tk şi prin acţiunea CI. În clasificarea lui Gell şi Coombs, leziunile celulare şi tisulare sînt de tip II (prin anticorpi), de tip III (prin CI) şi de tip IV (prin limfocite citotoxice), la care se adaugă şi leziuni de tip anafilactic I ca în boala lupică.

Va fi evidenţiat ulterior rolul complementului fixat pe CI, sau activat direct, atît în leziunile prin CI de hiperimunizare cu antigene nonself, cît şi în leziunile autoimune cu reacţii celulare anticorpice faţă de antigenele proprii.

F. *Leziunile celulare primare imunologice*

Substratul organic principal de boală imunologică îl constituie leziunile organelor şi celulelor care constituie SI. Din acest punct de vedere termenul de SCI, care se referă la componentele celulare, este cel mai potrivit. Dacă metodele histologice obişnuite nu detectează totdeauna acest substrat morfologic, explorările speciale pentru structurile funcţionale (membranele celulelor interne şi externe, aparatul ergastoplasmic, markerii de suprafaţă) pun în evidenţă acest substrat lezional. După tipul imunologic de boală, alterări ale sistemelor T sau B, ori ale macrofagelor trebuie cercetate în toate compartimentele topografice : sisteme centrale (timusul şi măduva osoasă, cu echivalentele lor pentru sistemul T) sau periferice (ganglionii limfatici, splina, sîngele periferic). Alterările sînt decelabile cantitativ, în exces sau în minus, şi calitativ (prin metode imunologice speciale, ca imunofluorescenţa, se pot evidenţia alterări ale markerilor de suprafaţă).

Cele mai caracteristice modificări cantitative ale aparatului imun se întîlnesc în deficitele imune de natură genetică, dar şi în unele dobîndite, cum este cazul proliferărilor maligne ale SCI.

În deficitul imun de tip T explorările arată o scădere a numărului de limfocite totale în sîngele periferic, cu o diminuare pînă la dispariţie a limfocitelor T. Explorările topografice arată o atrezie a timusului, cu diminuarea pînă la absenţa totală a timocitelor. În ganglionii limfatici şi în splină este caracteristică hipo- sau aplazia limfoidă în zonele specifice, respectiv paracorticale în ganglioni, şi perivascular în splină. În deficitul de tip T din limfoproliferările maligne în ganglioni şi splină se constată o înlocuire a limfocitelor T din zonele topografice specifice printr-un ţesut de granulaţie în cazul bolii Hodgkin, iar în leucemia limfatică cronică o proliferare difuză monomorfă a limfocitelor B, care face să diminue în valoare relativă limfocitele T în suspensia de celule de ţesut limfoid şi în sîngele periferic.

În deficitul imun de tip B, cum este agamaglobulinemia, se remarcă absenţa totală a foliculilor limfatici, care contrastează cu bogăţia de limfocite din ariile paracorticale, cu limfocite T. Măduva osoasă este săracă în limfocite, nu conţine centri germinativi, iar plasmocitele lipsesc complet chiar în stările de stimulare imună de tip B, ca pneumonia bacteriană sau vaccinarea antimicrobiană.

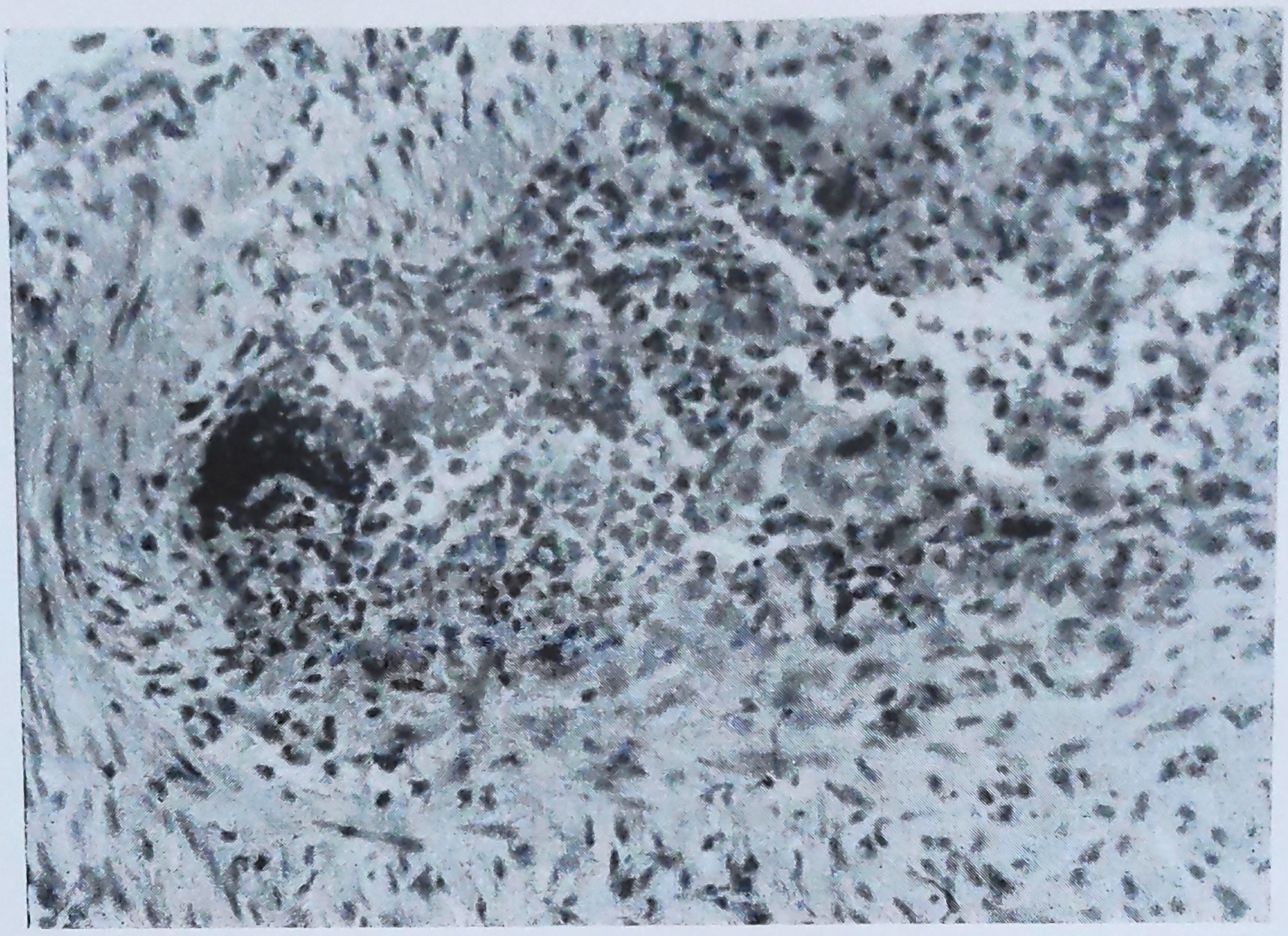


Fig. 22. — Leziuni prin complexe imune de tip fenomen Arthus.

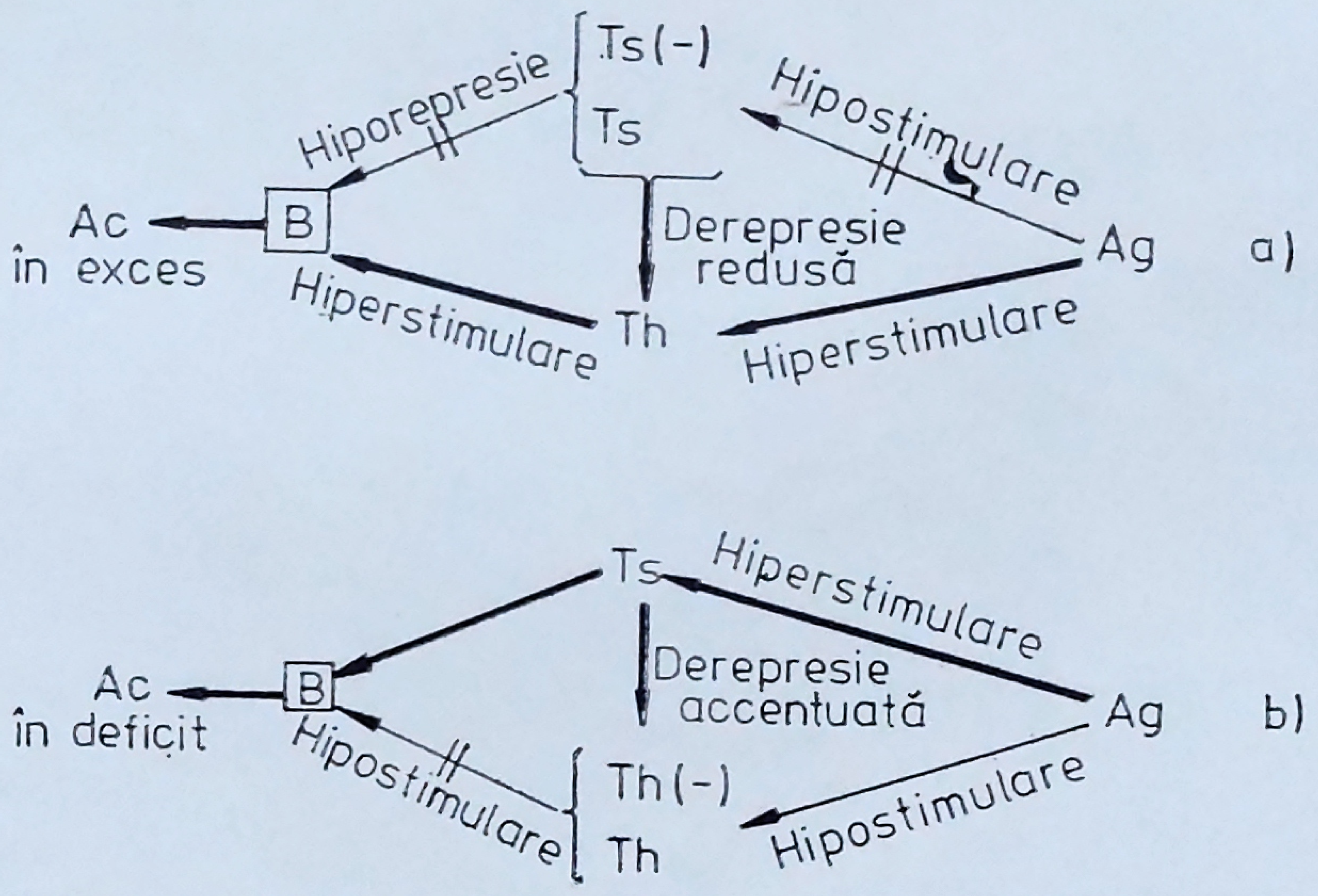


Fig. 23. — Dereglarea răspunsului imun cu hiperstimulare în sistemul B și exces de anticorpi (*a*) și hipostimulare în sistemul B cu deficit de anticorpi (*b*).

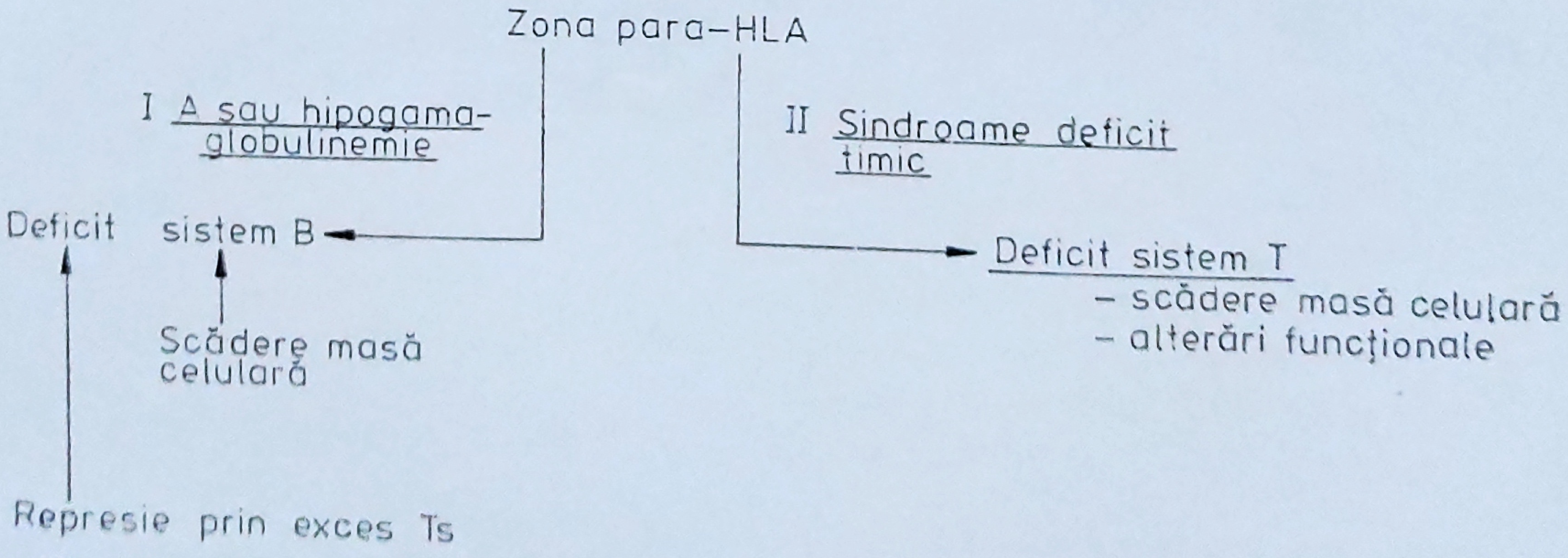


Fig. 24. — Schema globală a deficitelor imune prin dereglarea sistemelor T și B.

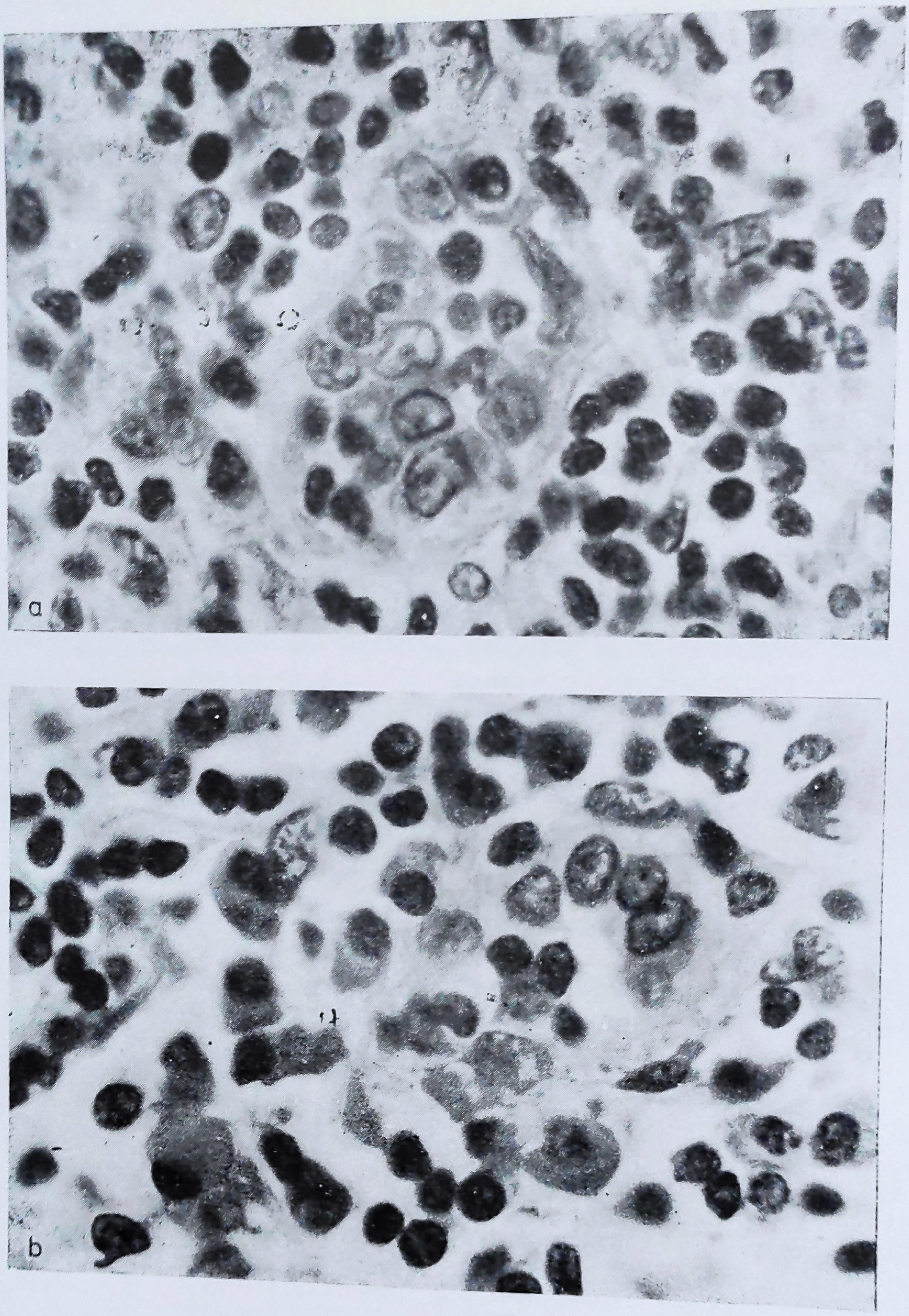
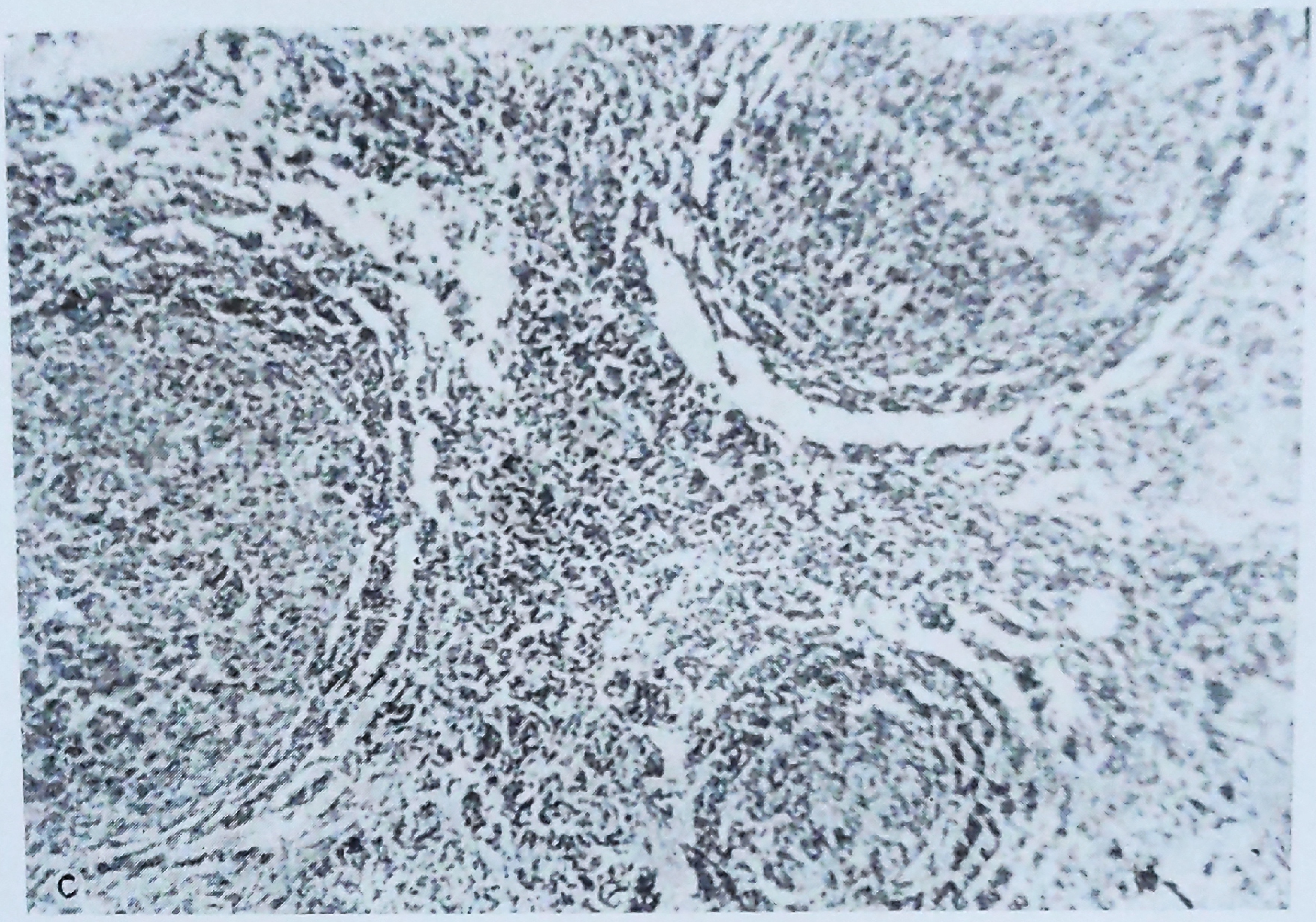


Fig. 25 a,b



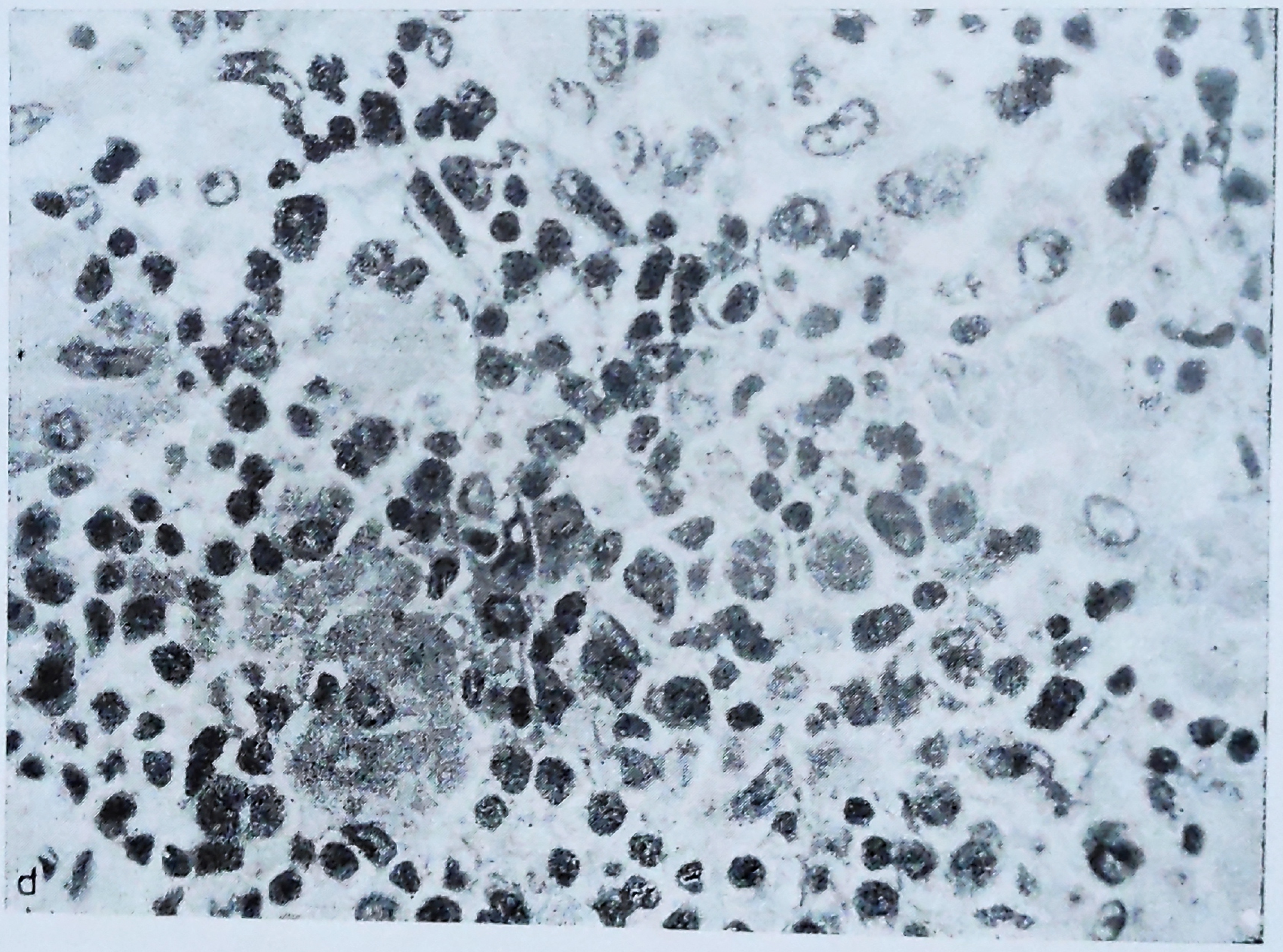


Fig. 25. — Imagini de reacție hiperplazică imunoreactivă în ganglion: endotelio-angeită hiperplazică (*a*); endotelită și infiltrație plasmocitară (*b*); hiperplazie foliculară (*c*); infiltrație epitelioidă (*d*).

În sîngele periferic scăderea generală de limfocite B este mai puțin evidentă, întrucît masa de limfocite B este obișnuit mult mai mică față de limfocitele T. Explorările speciale imune asupra markerilor specifici pentru limfocitele B arată însă scăderea pînă la dispariție a acestora.

Alterările sînt caracteristice în boala prin lipsă de anticorpi, congenitală, dar se întîlnesc și în limfoproliferările maligne cu celule histiocitare, cu celule blastice nediferențiate de tip imunoblastic și în limfoproliferările mai rare, de tip T, ca în leucemia limfoblastică acută de tip T, sindromul Cézary și micosis fungoides. De remarcat, în limfoproliferări, posibilitatea ca un sindrom de hipogamaglobulinemie globală sau selectivă să fie însoțit de o proliferare cu caracter malign a unei linii celulare limfoide diferențiată sau nediferențiată. Clasificarea nouă a limfoamelor maligne, propusă de Lennert (1975, 1978), distinge limfoame de țesut imunoblastic și imunocitar în care celulele diferențiate, imunocitele, sau slab diferențiate, imunoblastele, proliferează malign, alterînd secreția de Ig. Apar astfel defecte globale de secreție pînă la agamaglobulinemie sau, din contră, secreția unui component Ig monoclonal, în genere de tip IgM. Proliferările maligne limfocitare și plasmocitare cu hipogamaglobulinemie globală au la bază incapacitatea de asamblare a lanțurilor grele sau ușoare, determinînd sindroamele de limfoame cu lanțuri ușoare sau lanțuri grele. În toate aceste situații, independent de profilul de deficit imun umoral, cu scăderea anumitor clase de Ig și creșterea altora, substratul morfologic este totdeauna proliferarea sistemului limfoid la anumite nivele de diferențiere. Boala Waldenström cu hiperproducere de IgM și mielomul plasmocitar cu hiperproducere de IgG, IgA sau lanțuri ușoare se încadrează în grupul de *gamopatii monoclonale* cu caracter malign ca forme speciale de boli prin deficit imun secundar. Termenul lui Osserman de displazie plasmocitară este foarte potrivit pentru boala mielomatoasă în care proliferarea plasmocitară displazică și malignă determină un deficit imun caracteristic.

În deficitele imune globale cu atrezia congenitală a ambelor sisteme imune — T și B — este caracteristică aplazia ambelor zone topografice în ganglionul limfatic și în splină. Cele două organe limfoide prezintă o structură colageno-vasculară cu hiperplazie de celule histiocitare, macrofage, celule endoteliale, sinusoidale.

În sindromul congenital de deficit imun global sever există o atrezie timică, alături de scăderea limfocitelor din măduva osoasă și de o scădere globală a limfocitelor periferice, constituind starea de alimfocitoză. Termenul de *limfocitoftizie* sau de atrezie limfatică globală este de asemenea foarte caracteristic. De amintit că în reacția grefei contra gazdei, care apare în grefa alogenă de măduvă osoasă sau de timus, limfocitele grefate activate distrug aparatul limfoid al primitorului și condiționează de asemenea un sindrom sever de deficit global T și B, în genere ireversibil și fatal.

În celelalte boli imune (v. cap. VI), prin exces de răspuns imun și în special prin CI, leziunile în sistemul limfoid constau dintr-o proliferare polimorfă și difuză în toate organele imune (fig. 25).

Studiul funcțiilor imune din bolile autoimune arată deviații complexe în cooperarea imună, care duc la o diminuare a limfocitelor din

subpopulația Ts specifică pentru antigenele proprii și la o proliferare a clonei specifice de limfocite B secretoare de autoanticorpi.

În sindroamele autoimune care apar în limfoproliferările maligne se pot întîlni stări de deficit imun global față de antigenele nonself, care se asociază la deficitul de toleranță față de antigenele self. Substratul morfologic în organele imune, cum s-a semnalat mai sus, este de proliferare monomorfă, limfoidă sau plasmocitară, în grade variate de diferențiere imună, blocată prin procesul malign (Lukes, 1974).

G. *Leziunile imunologice secundare*

Din punct de vedere lezional, o boală imunologică se definește prin : (1) leziuni *primare* ale aparatului celular al imunității, în componenta celulară și în componenta moleculară ; (2) leziuni *secundare*, determinate de alterările funcționale ale aparatului imun, care apar ca o consecință patologică a primelor.

În unele boli imune, ca în cele prin deficit imun, predomină și au pondere în diagnostic leziunile primare : atrofia timică, aplasmocitoza medulară, scăderea de limfocite T circulante etc. În alte boli imune, și în special în cele prin CI și autoimune, leziunile primare sînt în genere nespecifice, pe cînd leziunile secundare sînt diferențiate de la un sindrom la altul și constituie parametrii morfologici și imunobiologici de diagnostic. Se poate concepe că aparatul imun dereglat în structurile lui primare determină leziuni în anumite compartimente care constituie o anumită boală imună. Pentru diagnostic, investigațiile trebuie îndreptate spre explorarea atît a leziunilor din organul sau celulele-țintă, cît și a factorilor care produc aceste leziuni secundare. Astfel, într-o boală imună sanguină, ca anemia hemolitică autoimună sau purpura trombopenică idiopatică, efectul lezional constă din scăderea masei de globule roșii sau a trombocitelor. Factorii imunopatologici cauzali sînt autoanticorpii antieritrocitari și antitrombocitari, care trebuie cercetați prin metode specifice.

În LED, leziunile țintă sînt mai polimorfe : structuri nucleoproteinice rezultate din acțiunea factorului antinuclear care determină apariția corpilor hematoxilinici ; leziuni renale, vasculare și cardiace, cu caracter de degenerescență fibrinoidă ca în orice boală de colagen, consecință a agresiunii inflamatorii prin complexe imune. Diagnosticul va urmări punerea în evidență a leziunilor nucleare prin fenomen lupic : leziunile de „wire loop" glomerulare prin puncție renală și factorul specific serologic antinuclear din circulație și din leziuni prin imunfluorescență.

Alterările primare sînt numai proliferări nespecifice în organele limfoide ; explorările imune specifice pot arăta însă și dereglări complexe cu hipergamaglobulinemie, scăderea C3 și apariția de autoanticorpi. Explorările prin metode ca microscopia electronică și imunfluorescența pun în evidență prezența de CI, în genere cu complement și mai rar cu structuri autoantigenice. Se asociază totdeauna, ca în orice leziune prin CI, leziuni inflamatorii de endotelită, aglomerări de leucocite, depunere de fibrină prin activarea coagulării. Această activare a coagulării în bolile prin CI sau prin acțiunea directă a autoanticorpilor față de structurile

reticulare din membranele bazale constituie o caracteristică a leziunilor imune în capilar și stau la baza multor sindroame care însoțesc aceste boli : hemoragii sau tromboze vasculare, locale sau difuze, hipercoagulare cu manifestări tromboembolice sau coagulare intravasculară diseminată, uneori greu de diferențiat de leziunile din purpura trombotică trombocitopenică. Pot surveni însă și tulburări de fibrinoliză în stările în care balanța hemostază — fibrinoliză este tulburată prin hiperactivarea sistemului fibrinolitic.

Un sindrom particular al bolilor autoimune sau hiperimune determinat de macroagregatele de complexe imune îl constituie sindromul de *crioglobulinemie*. Aglomeratele imune, cu sau fără complement, în genere cu factori imuni specifici, factor reumatoid, factori antinucleari, Ig cu caracter de crioaglutinine hemolitice, fracțiuni de complement, precipită în vasele mici determinînd leziuni de tromboză și necroză cutanate și viscerale. Analiza aparatului imun primar poate să arate o proliferare limfoplasmocitară malignă sau o proliferare imună reactivă, polimorfă, cu hipergamaglobulinemie policlonală. Analiza imunochimică pune în evidență alterări disgamaglobulinemice variate, cu Ig în exces sau în deficit, și în genere prezența de autoanticorpi specifici pentru o anumită boală imună. Criopatiile constituie un capitol de patologie de graniță, cu o îmbinare de leziuni primare și secundare, specifice și nespecifice. Se poate pune în evidență o stare de deficit imun de tip B, T sau chiar un deficit macrofagic, care determină persistența antigenelor și prin aceasta o hiperstimulare cu formare de CI. Autoîntreținerea limfoproliferărilor reactivate prin hiperstimulare rupe cooperarea T—B de toleranță imună și duce la o boală cu caracter autoimun. În genere, acest cerc vicios se termină cu o proliferare monomorfă în organele limfoide sau malignizate sau cu o proliferare de graniță de multe ori greu de diferențiat de prima.

H. *Model de clasificare a leziunilor imunologice*

În capitolele VI—XII vor fi prezentate mecanismele patogenice specifice fiecărei boli și leziunile primare și secundare pe care le produc. Leziunile din organele-țintă au fost clasate după factorul imun agresiv în 4 grupe de către Gell și Coombs. Deși multe monografii din ultimii ani nu le mai citează, le considerăm utile pentru înțelegerea mecanismelor de boală. Autorii au avut în vedere modul de producere a leziunilor în organele sau celulele-țintă asupra cărora pot să acționeze agresiv anumiți factori imunopatologici umorali, anticorpii, CI și mediatorii chimici sau limfocitele sensibilizate considerate Tk, la care se pot adăuga și macrofagele activate sau limfocitele îmbrăcate cu anticorpi în fenomenul de citoliză dependentă de anticorpi (Mann și colab., 1974).

Clasificarea lui Gell și Coombs împarte astfel leziunile : *(1)* leziuni de tip I prin mediatori chimici ; *(2)* leziuni de tip II prin acțiunea directă citotoxică a anticorpilor ; *(3)* leziuni de tip III prin acțiunea citotoxică

şi tisulară a CI şi *(4)* leziuni de tip IV prin acţiunea distructivă a limfocitelor sensibilizate şi a macrofagelor activate.

În *tipul I*, mediatorii chimici eliberaţi de reacţia antigenului cu reagine produc modificări vasoactive anafilactice locale, ca în urticarie şi astm. *Tipul II* este o modalitate de leziune mai rară şi discutabilă, în care anticorpii sau autoanticorpii lezează prin acţiune directă structurile de membrană sau chiar celulele parenchimatoase. Mecanismul de tip II este tipic pentru hemolizele autoimune şi izoimune, pentru trombocitopenia autoimună şi pentru unele leziuni citotoxice bine dovedite *in vitro*, ca acţiune anticorpilor de transplantare. S-a observat însă că leziunile citotoxice prin autoanticorpi sînt rare, chiar dacă titrul acestora este foarte înalt. Leziunile din organele ţintă sînt în general de *tip III*, prin CI antigen-anticorp, de multe ori cu complement. Chiar unele leziuni de tip II din anemia hemolitică autoimună cu anticorpi de tip IgM sînt mai ales prin acţiunea lui C3. Toate afecţiunile imune de auto- sau hipersensibilizare sînt determinate ca substrat lezional secundar prin CI. Acesta este cazul purpurei Schönlein-Henoch, glomerulonefritei acute, reumatismului poliarticular acut, periarteritei nodoase (PAN), LED şi altele. În leziunea de *tip IV*, limfocitele T par să determine cele mai multe leziuni parenchimatoase ca în miocardite, în hepatita cronică agresivă şi în special în leziunile din organele transplantate în procesul de rejecţie, cord sau rinichi. Şi în aplazia medulară, tiroidita autoimună şi encefalomielite întîlnim leziuni de tip IV, prin celule sensibilizate.

Schema autorilor englezi nu cuprinde însă şi leziuni imune mai complexe. În cele ce urmează încercăm corelarea leziunilor complexe prin mecanisme umorale şi celulare secundare cu modificările primare care se produc în orice boală imună.

I. *Leziunile primare în SI*

Imunomorfologice : *(1)* Aplazie sau hipoplazie în sistemele imune T sau B, sau în ambele : bolile de deficit imun. *(2)* Hiperplazie polimorfă în SCI, T, B şi macrofage, uneori predominant de tip B (hipertrofie foliculară sau plasmocitoză) însă intricate cu limfocite T şi macrofage : boli de hiperimunizare, boli de autoimunizare. *(3)* Hiperplazie monomorfă a unei clone celulare de tip B în general, mai rar histiocitară şi foarte rar de tip T : limfoame maligne.

Imunomoleculare : *(1)* Deficit prin sistemul B în producerea de imunoglobuline anticorpi, sistematizate ca în agamaglobulinemie congenitală, în hipogamaglobulinemia dobîndită primară sau secundară ; deficit complex ca în disgamaglobulinemii, cu scăderea anumitor clase de Ig, în genere asociat şi cu deficit T. *(2)* Disgamaglobulinemii cu hipergamaglobulinemii ca în limfoame şi mieloame, cu creşterea unui component M şi scăderea celorlalte clase de Ig ; hipergamaglobulinemii policlonale ca în toate stările hiperimune sau autoimune cu leziuni prin complexe imune. *(3)* Disgamaglobulinemii cu hipergamaglobulinemie policlonală, cu deviaţie imună şi apariţia de autoanticorpi din bolile autoimune. Autoanticorpii se pot găsi în circulaţie (LED, AHAI, PCE) sau sînt captaţi în CI pe celule şi ţesuturi ca în sindromul nefrotic, polimiozită, sindromul Goodpasture etc. Metodele directe sau indirecte de determinare a autoanticorpilor circulanţi precizează un diagnostic sigur pentru anumite boli. Autoanticorpii lipsesc în circulaţie în multe colagenoze autoimune, ca şi în unele afecţiuni parenchimatoase autoimune, ca în hepatite, nefrite, miocardite, însă cu metode speciale de imunfluorescenţă sau prin eluţie pot

fi puşi în evidenţă în ţesuturi. Investigaţiile asupra complementului arată scăderi în ser şi fixări pe ţesuturi, atît în multe boli autoimune, cît şi în cele prin CI, constituind o metodă preţioasă de diagnostic şi prognostic.

II. *Leziunile secundare în organele-ţintă*

Deşi complexe, sînt determinate de intricarea celor 4 tipuri din clasificarea lui Gell şi Coombs. Ca leziuni specifice unice fiecărui tip se întîlnesc însă numai în cîteva boli, ca AHAI şi PTI. În genere însă, leziunile organice secundare sînt o intricare de leziuni de tip III şi IV prin CI şi infiltraţie de limfocite citotoxice la care se adaugă histiocitele, macrofagele, leziuni vasculare şi leziuni secundare trombozelor vasculare. Se intrică de asemenea leziuni caracteristice prin acţiunea anumitor complexe imune sau prin anticorpii specifici pentru membranele bazale, pentru structurile nucleare, precum şi modificări de colagen şi de vase cu infiltraţii şi degenerescenţe în perete şi adventice.

V

Deficitele imune

Numai cu 5 ani în urmă, prezentarea sindroamelor de deficit imun era încă destul de facilă, dar se prevedea că posibilitățile patogenice de determinare a unui anumit sindrom sînt mult mai mari. În prezent, lărgirea sau adîncirea cercetărilor experimentale au pus în evidență încă multe mecanisme de dereglare a componentelor SI, care cooperează sub comanda centrului genetic din locusurile intra- sau para-MHC (v. cap. I, E). Cu toate că rezultatele experimentale nu pot fi aplicate decît cu mare prudență în patologia umană, este sigur că în multe situații în care reacțiile de apărare imună sînt neadecvate față de anumiți agenți infecțioși intervin mecanisme dovedite sau presupuse în urma cercetărilor experimentale recente. Importante în progresul cunoștințelor asupra deficitelor imune sînt cercetările din patologia umană care pun în evidență, pe lîngă alte aspecte de patologie imună deficitară, noi factori și interrelații în SI. În capitolul de patologie imună din tratatul lui Miescher (1976), Good, pionierul patologiei imunodeficitelor la om, face un istoric al dezvoltării acestora începînd cu anul 1933, analizînd progresele făcute în imunologia fundamentală prin studiile sistematice ale acestor ,,experimente ale naturii'' care sînt sindroamele de deficit imun. Conștient de responsabilitatea celui care cercetează patologia umană pentru problemele de cunoaștere aprofundată în biologia imunității, Good răspunde unei acuzații a lui Burnet definind responsabilitatea celui care cercetează experimentul naturii pe om ca o înaltă obligație etică de a face totul pentru a corecta această aberație a SI. Aceste comandamente etice sînt pentru Good la fel de importante ca și cele implicate de cercetarea biologică fundamentală. S-a ajuns în ultimii ani la rezultate remarcabile în tratamentul deficitelor imune, care cu 10 ani înainte apăreau ca fatalități ale hazardului genetic necontrolabil.

◆

Deficitele imune se pot defini ca dereglări ale SI care condiționează alterarea răspunsului imun față de antigenele non-self, în sensul că declanșarea răspunsului imun nu conduce la rezultatul fiziologic de anihilare și eliminare a antigenului. În cap. III, A s-a arătat că răspunsul imun prin anticorpi este rezultatul unei cooperări T—B, ca răspuns la impulsul antigenelor străine prezentate de sistemul macrofagic. Odată eliberate în circulație, într-un răspuns imun eficient. Ig anticorp formează CI care sînt ,,curățate'' din circulație, ca și antigenele, de către sistemul macrofagic. Răspunsul imun este adaptat fiecărui tip de antigen, predominînd sis-

temul T sau sistemul B, după cum antigenele care îl declanșează sînt T-dependente sau independente (v. cap. II, D).

După Good (1976), rolul limfocitelor T și B în patologia imună este următoarea :

Funcțiile majore ale celulelor T

1. Inițiază reacții alergice întîrziate și reacții Jones-Mote.
2. Inițiază reacții „grefă-contra-gazdă".
3. Răspund *in vitro* cu transformare blastică la PHA sau la celule alogene iradiate sau tratate cu mitomicină.
4. Participă la funcția de distrugere (omorîre) a celulelor tumorale.
5. Participă la rejecția alogrefei de țesut solid.
6. Participă ca o componentă majoră specifică într-unul din sectoarele de apărare a organismului contra unor virusuri, fungi și patogeni bacterieni intercelulari ocazionali.
7. Participă la supravegherea imună contra cancerului.

Funcțiile majore ale celulelor B

1. Produc receptori imunoglobulinici (cu rol de anticorpi specifici).
2. Secretă imunoglobuline și anticorpi.
3. Asigură apărarea primară contra bacteriilor patogene cu grad mare de încapsulare.
4. Detoxifiază proteinele, polipeptidele și alte toxine.
5. Previn recăderea infecțiilor virale și a unor infecții bacteriene.

Macrofagul activat își îndeplinește funcția de clearance și de catabolizare a antigenelor printr-un proces de fagocitoză cu eliberare de H_2O_2 (v. cap. II, C). Recent s-a arătat că funcția imună a limfocitelor, maturarea și orientarea lor pentru un răspuns imun sînt dependente de anumite sisteme enzimatice deficitare în defectele imune de tip T.

După Good (1976) se pot identifica două grupe de bacterii în funcție de capacitatea bactericidă a leucocitelor :

A. *Bacterii care nu sînt omorîte* — Stafilococi coagulozo-pozitivi ; *Escherichia coli ; Aerobacter aerogenes* ; paracolon hafnia *(Klebsiella) ; Serratia marcescens.*

B. *Bacterii care sînt omorîte — Lactobacillus acidophilus ; Streptococcus viridans ; Diplococcus pneumoniae* ; *Streptococcus faecalis.*

S-a arătat în prima parte (v. cap. II) cum cooperarea dintre macrofage și limfocite este legată de recunoașterea markerilor de suprafață ai histiocitelor și a limfocitelor între ele, probabil cu intervenția mediatorilor chimici, limfokine și monokine. Aceste recunoașteri sînt comandate de sistemul genetic mai puțin cunoscut la om în zonele Ir și Ia. Celulele SI răspund prin cooperare dacă aparțin aceluiași fenotip în MHC (Katz, 1974). S-a arătat *in vitro* că răspunsul imun nu este posibil cu limfocite T sau B și chiar cu macrofage de la șoareci diferiți în sistemul H-2. Funcționarea eficientă a SCI este posibilă deci numai cu o integritate a structurilor celulare imune, timus, bursa lui Fabricius, măduva osoasă, splină, ganglioni limfatici. La om, stări patologice din cele mai complexe, genetice sau dobîndite, pot să altereze SI la ordine din nivelele sale, central sau periferic. Alterările genetice sînt cele mai tipice însă există și alterări dobîndite, primare sau secundare, printre care Good integrează, de asemenea ca „experimente

ale naturii", sindroamele de deficit imun din limfoamele maligne hodgkiniene și nehodgkiniene și din mieloame.

La încadrarea și descrierea tuturor bolilor de deficit imun cunoscute în prezent, unii autori se orientează după cronologia descoperirii lor sau după frecvența lor (Good, 1976; Webster, 1977).

Ținînd seama de concepția unitară a SI ca un sistem integrat celular și molecular, cu comandă centrală și execuție periferică, vom face o prezentare a deficitelor imune care să faciliteze localizarea unei stări patologice la un anumit nivel celular sau molecular în cadrul sistemului. În clasificarea noastră, deficitele imune majore se axează pe linia de expunere din lucrarea apărută în 1975, iar altele sînt încadrate în grupe noi, conform fig. 18.

1) *Deficite imune celulare* ale sistemelor de limfocite T și B și ale sistemului macrofagic de etiologie genetică. Distingem deficitele imune denumite boli prin lipsă de anticorpi, determinate de scăderea sistemului celular B în periferie și în organele centrale, apoi deficitele imune prin scăderea cantitativă a sistemului limfoid T, avînd ca tip sindromul de aplazie timică, sindromul di George (1965).

Deficitul genetic mixt sever, care determină o scădere cantitativă a ambelor sisteme T și B, cu alimfocitoză sau limfocitoftizie, este descris în literatură sub diverse denumiri, dar trebuie înțeles pe plan clinic și imunomorfologic ca sindrom de atrezie a sistemelor celulare limfoide globale centrale (timus și măduva osoasă) și periferice (ganglion limfatic, splină, sîngele periferic).

2) *Disfuncții imune separate*, mai ales în sistemul B, cu deficiență de secreție a Ig, mai ales IgA, și mai rar de tip IgG sau IgM.

3) *Deficite imune complexe* puțin sistematizate, cu scăderea unei anumite clase de Ig și în genere cu creșterea celorlalte clase. În lucrarea apărută în 1975 am prezentat un tabel de așa-zise „disgamaglobulinemii", în care se separă 7 tipuri de asemenea disfuncții. Asocierea lor stă la baza unor sindroame clinice, ca sindromul Aldrich-McClure și cel de ataxie telangiectazică. Ținînd seama de relațiile de cooperare T și B, mai ales prin efectul din relația Th și Ts, este sigur că în cadrul disglobulinemiilor și a diferitelor forme de deficit cu scăderea selectivă a anumitor anticorpi, defectul de secreție în sistemul B este condiționat de un deficit în sistemul T. Cercetările de imunologie experimentală ne facilitează înțelegerea patogenică a acestor situații. Se știe că unii bolnavi au tendință la infecții repetate ale aparatelor respirator și digestiv, cu anumiți germeni Gram-negativi, față de care se pot determina carențe anticorpice prin scăderea de IgA sau IgG. Studii sistematice efectuate pentru anumite subpopulații de limfocite T arată deficitul global al acesteia sau o dereglare în interrelația Ts-Th, cu scăderea anticorpilor pentru germenii cu antigene timus-dependente. Este posibil ca deficitul să fie la nivel de limfocit B pentru infecțiile ce liberează antigene T-independente (endotoxină 0).

Cum cercetările experimentale arată că modelele de studiu depind de specia și de linia de animale inbred, se poate considera că, în patologia umană, la anumite structuri fenotipice HLA pot să existe disocieri imune cu răspunsuri deficitare față de anumite antigene ale agenților infecțioși.

Aceste date implică o metodologie nouă în diagnosticul patogenic imunologic al anumitor deficite restrînse.

4) *Sindroame de deficit imun în sistemul macrofagic* au fost semnalate prima oară prin boala congenitală la copii, cunoscută sub numele de granulomatoză cronică prin deficit de catalază. Este posibil ca sindromul să apară și în condiții de boală dobîndită, în stări infecțioase cu mare agresivitate microbiană sau în proliferările maligne ale sistemului histiomacrofagic, ca în histiocitoza X și alte tezaurismoze, ca și în afecțiunile de graniță, maligne sau reactive, descrise recent.

În relația macrofag—limfocit T, în care limfocitul T exercită funcția de activare a macrofagelor (v. cap. II, C), există situații în care deficitul în T determină un deficit în funcțiile macrofagului, așa cum au arătat experiențele clasice ale lui Mackaness (1969 și 1970) în infecțiile bacteriene cu bacili acido-rezistenți (lepra și tuberculoza). Incapacitatea macrofagului de a metaboliza acești germeni, precum și unii paraziți (histoplasma, toxoplasma, fungi, plasmodium etc.) poate să aibă la bază un deficit imun T congenital sau dobîndit. În patologia malignă (histiocitoza malignă, reticulosarcomul clasic, boala Hodgkin) se produce un deficit de activare a macrofagelor prin afectarea lor directă sau printr-o activare deficitară la nivel de limfocit T.

5) *Hipergamaglobulinemiile pasagere*, care apar la copii în primul an de viață, se datoresc unei întîrzieri de maturare a sistemului imun, formă de deficit imun reversibil binecunoscută în pediatrie. Întîrzierea în sinteza de Ig integrale poate fi pînă la 12—18 luni; depășirea acestei vîrste arată că deficitul imun devine ireversibil.

6) *Deficitele imune funcționale* de tip T sau B sînt definite ca stări patologice în care populațiile celulare sînt normale, dar cooperarea lor este defectivă. Există de asemenea stări în care răspunsul imun anticorpic este normal, cu prezența normală de Ig, însă cu cooperare imunomoleculară deficitară. Seligman a semnalat mai demult această posibilitate, în care ar exista un deficit de cooperare a anticorpilor de clase Ig diferite, care n-ar mai fi secretate în secvența și concentrațiile normale.

Cercetările experimentale arată că pot interveni dereglări speciale în eficiența răspunsului imun prin factori de *feed-back*, care determină o supresie fiziologică pentru reglarea răspunsului imun. O astfel de supresie poate apărea direct prin cantitatea de anticorpi, care în anumite stări infecțioase poate deveni patologică. De asemenea, prelungirea unei reacții anti-idiotipice poate avea un efect imunosupresor deși populațiile de limfocite T și B sînt normale (Waldman, 1974; Papamichael și Halborow, 1977).

7) *Deficitele imune din proliferările maligne* T și B se întîlnesc frecvent, astfel că în diagnosticul, prognosticul și tratamentul limfoamelor maligne trebuie să se țină seama de ele. La mai multe reuniuni de specialitate (Berceanu și colab., 1974, 1975) am prezentat un model de investigație imună pentru a determina statusul imunologic din aceste boli, luînd ca tip boala Hodgkin. În prezent, mai trebuie adăugate explorarea limfocitelor Ts și Th, precum și a celulelor killer care pot să fie de tip T, celule „nule", nematurate, sau macrofage.

În orice limfoproliferare malignă pentru a depista un deficit imun se va ține seama de alterarea unui anumit component care, la rîndul său, poate să fie rezultatul alterării cooperării imune limfocit T — limfocit B — macrofag. Așa se explică infecțiile de un anumit tip în boala Hodgkin și în mielom, dar și asocierile de infecție virală, micotică sau microbiană în aceeași boală malignă.

8) Un capitol nou de patologie de deficit imun se conturează recent în cadrul așa-ziselor *paralimfoame* („lymphoma-like") *sau limfoproliferări de graniță*. Încă din 1967 am arătat că o clasificare a limfoproliferărilor trebuie să cuprindă formele imunoreactive și formele maligne, iar între ele forme de graniță (Berceanu, 1963, 1967, 1975, 1977, 1978, 1979). La numeroase reuniuni internaționale și naționale am insistat asupra recunoașterii acestor forme de graniță în care persistența unui antigen duce la o hiperstimulare imună cu histio-limfoproliferare, care, după o anumită perioadă, se transformă într-o limfoproliferare malignă bine conturată ca boală Hodgkin, mielom, limfom malign, leucemie limfatică cronică. Contribuții recente atestă acest punct de vedere și autori de competență înaltă (Lukes și colab., 1973 ; Mathé și colab., 1978 ; Rappaport și colab., 1975 ; Lennert și colab., 1978) descriu adenopatii ca pseudolimfoame care pot sau nu să evolueze spre proliferări maligne. Unele din aceste limfoproliferări reactive sînt descrise ca entități distincte, ca limfomul Lennert sau adenopatia angio-imunoblastică, limfomul Castelman sau chiar sarcoidoza Besnier-Boeck-Shauman. În toate aceste limfoproliferări mult timp reactive există un deficit imun bazal, care întreține persistența unui antigen și hiperstimularea imună neeficientă. Nu există cercetări sistematizate pentru fiecare din aceste tipuri de limfoproliferări de graniță, dar este foarte posibil ca deficitul să fie mai ales la nivel de limfocit T, în cooperarea cu macrofagele sau cu limfocitele B. Probabil că cel mai frecvent există un deficit Ts care determină hiperstimularea imună a limfocitelor B cu secreție prelungită de Ig, cu formare de CI nepreluate de macrofage. Evoluția spre limfoproliferări maligne în aceste situații de autoîntreținere poate să treacă printr-o fază de boală autoimună, hiperstimularea imună neeficientă determinînd o rupere a toleranței imune, ca în boala autoimună experimentală prin antigen Freund (Berceanu și colab., 1962, 1967, 1975).

Clinicianul și patologistul trebuie să țină seama de aceste forme particulare de deficit imun cu evoluție gravă, să urmărească ani de zile cazurile în care se pun în evidență leziuni de limfoproliferare imună de graniță. Nu se știe dacă o terapie profilactică poate preveni evoluția malignă în aceste cazuri, în care este posibil un deficit imun genetic selectiv pentru anumite antigene.

A. *Particularitățile clinice-biologice ale bolilor și sindroamelor de deficit imun*

Urmînd clasificarea propusă de Comisia OMS în noiembrie 1977, Rosen descrie, în 1979, 17 entități considerate ca „boli de imunodeficiență". Ordinea în care sînt expuse nu pare să aibă o legătură imunopatogenică

sau imunoclinică, cu atît mai mult cu cît în unele din aceste afecțiuni nu este dovedită o anumită dereglare imună. De asemenea, în alte lucrări recente nu există o unitate de vederi în ceea ce privește ierarhizarea grupelor patogenice speciale, deși toți autorii (Good, 1976; Jäger, 1976; Webster, 1977; Rosen, 1979) recunosc grupe dependente de deficitul sistemului T sau B, ori de ambele sisteme.

După Berceanu (1975), bolile imune pot fi clasificate astfel:

A. *Boli prin deficit imun*

a) prin deficit parțial:
- ↗ deficit de imunitate celulară (sist. Lc T) (tip sindrom Di George)
- ↘ deficit de imunitate anticorpică (sist. Lc B) (tip agamaglobulinic)

b) prin deficit global: deficit mixt de alimfocitoză și agamaglobulinic

B. *Boli prin hiperreactivitate imună* (boli alergo-anafilactice)
a) boli anafilactice: hipersecreție reaginică (IgE, IgA)
b) boli imunohiperergice (boli prin complexe imune)

C. *Boli autoimune:*
a) prin antigene sechestrate,
b) boli de colagen,
c) boli imunohematologice,
d) neuropatii demielinizante,
e) dereglări imune în alte boli cronice: cardiopatii, nefropatii, hepatite cronice etc.

Noi le vom expune în ordinea cunoașterii lor cît mai adecvată din punct de vedere clinic și imunologic și le vom clasa după caracterele lor în unul din grupele patogenice definite mai sus. Vom încerca o simplificare a nomenclaturii după caracteristica biologică majoră, ținînd însă seamă de nomenclatura deja cunoscută (tabelul nr. 11).

1. *Boala prin lipsă de anticorpi (agamaglobulinemia ereditară tip Bruton sau aplasmocitoza)*

Caracterul de maladie imunodeficitară a fost descris (Berceanu, 1975) ca o boală congenitală prin deficit de diferențiere a limfocitului B. Este greu de spus dacă în această boală deficitul de diferențiere este legat de carența unui anumit sistem enzimatic ca cel de „PND" (purin-nucleozid-deaminază), dovedit ca necesar diferențierii limfocitului T, sau o carență de „ADA" (adenozin-deaminază), care intervine în sinteza purinelor (Rosen, 1979). În schema generală modificată după Jäger se precizează nivelul unde se produce deficitul de diferentiere cu proliferare de celule B, care normal activate se transformă în plasmocite.

În forma sa tipică, agamaglobulinemia Bruton apare congenital la băieți manifestîndu-se din anul al doilea de viață. Este de presupus

Tabelul nr. 11

Clasificarea imunodeficitelor primare
(după Bull. OMS, Geneva, 1978)

Denumirea	Expresia uzuală fenotipică		Locul presupus al defectului celular	Mecanismul patogenic cunoscut sau presupus	Ereditatea (transmitere ereditară)	Trăsăturile principale asociate
	deficienţe funcţionale	anomalii celulare				
1. D.I. severe combinate						
a) Disgenezie reticulară	CI, Ac şi fagocite	↓ T,B, şi fagocite	CSH	necunoscut	RA	—
b) „Tipul elveţian"	CI şi AC	↓ T şi B	CSL	necunoscut	RA	—
c) Deficienţă ADA	CI şi AC	↓ T ± B	SCL sau T imatur	efecte metabolice de deficit ADA	RA	±anomalii condrocit
d) Cu limfocite B	CI şi Ac	↓ T (fără limfocite B sau cu diversitate izotip normală)	T imatur± B imatur	necunoscut	legat de X sau RA	—
e) Altele						
2. Hipoplazie timică (sindromul Di George)	CI ş dereglare Ac	↓ T	Timus	embriopatia pungilor 3 şi 4 la faringiene	nefamilială	1) hipoparatiroidism 2) expresie anormală a feţei 3) Anomalii cardiovasculare
3. Deficienţă PNP	CI ± Ac	↓ T	—	efecte metabolice	RA	anemie hipoplazică
4. D.I. cu ataxie şi telangiectazie	CI şi parţial Ac	↓ T şi plasmocite (îndeosebi IgA, IgE ± IgG)	T imatur şi defect în diferenţierea terminală a limfocitelor	necunoscut epiteliu timic defectuos? defect al ADN	RA	1) ataxie cerebeloasă 2) telangiectazie 3) disgenezie ovariană 4) anomalii cromosomiale
5. D.I. cu timom	Ac şi tulburare IC	↓ pre-B şi B± ↓ T	CSH	necunoscut	—	1) timom 2) eozinopenie 3) eritroblastopenie 4) anemie-aplastică

6. Agamaglobulinemie legată de cromosom X	Ac	↓ B	pre-B	necunoscut	legat de cromosom X	—
7. Deficit de transcobalamină II	Ac și fagocitoză	↓ plasmocite	insuficiența diferențierii terminale a limfocitelor	efecte metabolice ale deficitului de vit. B_{12}	RA	1) pancitopenie cu anemie megaloblastică 2) atrofie intestinală viloasă
8. Deficit IgA selectiv	IgA Ac	↓ plasmocite IgA ± ± B α limfocite ↑ ± ↓ T	diferențierea terminală a Bα limfocitelor defectuoasă	1) ? ↑ Ts 2) ? ↓ Th 3) ? defect intrinsec	necunoscut> RA> DA frecvent în familiile bolnavilor cu D.I.	1) ocazional deleție cromosomială — 18 2) anticorpi anti-IgA
9. Deficit selectiv de o clasă sau subclasă Ig	Ac	↓ plasmocite ± ↓ T	necunoscut	necunoscut ? ↓ Ts	necunoscut	—
10. Deficit secretor	IgA secretor Ac	↓ plasmocite IgA intestinale	celule epiteliale mucoase	necunoscut	necunoscut	—
11. Deficiențe Ig cu IgM crescut	Ac	↓ plasmocite IgG și IgA plasmocite IgM ± ↑ limfocite B	defect al diferențierii terminale a limfocitelor Bα și Bγ	necunoscut	legat de cromosom X sau necunoscut RA	—
12. Deficite IgG cu producție IgM și fără celule	Ac	↓ limfocite B și B absent	pre-B sau B	diversificare izotip defectuoasă	RA sau necunoscut	—
13. Hipogamaglobulinemie tranzitorie infantilă	Ac	↓ plasmocite	diferențiere terminală defectuoasă a limfocitelor B	? ↓ Th	frecvențe la indivizi heterozigoți din familii cu DI combinate severe	—
14. Deficit de anticorpi cu gamaglobuline normale sau hiper	Ac defectuos pentru unele antigene (răspuns primar)	↓ B	pre-B sau B imatur	?reducerea dimensiunii clonale sau diversitate	RA uneori	—

6. Agamaglobulinemie legată de cromosom X	Ac	↓ B	pre-B	necunoscut	legat de cromosom X	—
7. Deficit de transcobalamină II	Ac și fagocitoză	↓ plasmocite	insuficiența diferențierii terminale a limfocitelor	efecte metabolice ale deficitului de vit. B_{12}	RA	1) pancitopenie cu anemie megaloblastică 2) atrofie intestinală viloasă
8. Deficit IgA selectiv	IgA Ac	↓ plasmocite IgA ± ± B α limfocite ↑ ± ↓ T	diferențierea terminală a Bα limfocitelor defectuoasă	1) ? ↑ Ts 2) ? ↓ Th 3) ? defect intrinsec	necunoscut> RA> DA frecvent în familiile bolnavilor cu D.I.	1) ocazional deleție cromosomială — 18 2) anticorpi anti-IgA
9. Deficit selectiv de o clasă sau subclasă Ig	Ac	↓ plasmocite ± ↓ T	necunoscut	necunoscut ? ↓ Ts	necunoscut	—
10. Deficit secretor	IgA secretor Ac	↓ plasmocite IgA intestinale	celule epiteliale mucoase	necunoscut	necunoscut	—
11. Deficiențe Ig cu IgM crescut	Ac	↓ plasmocite IgG și IgA plasmocite IgM ± ↑ limfocite B	defect al diferențierii terminale a limfocitelor Bα și Bγ	necunoscut	legat de cromosom X sau necunoscut RA	—
12. Deficite IgG cu producție IgM și fără celule	Ac	↓ limfocite B și B absent	pre-B sau B	diversificare izotip defectuoasă	RA sau necunoscut	—
13. Hipogamaglobulinemie tranzitorie infantilă	Ac	↓ plasmocite	diferențiere terminală defectuoasă a limfocitelor B	? ↓ Th	frecvențe la indivizi heterozigoți din familii cu DI combinate severe	—
14. Deficit de anticorpi cu gamaglobuline normale sau hiper	Ac defectuos pentru unele antigene (răspuns primar)	↓ B	pre-B sau B imatur	?reducerea dimensiunii clonale sau diversitate	RA uneori	—

Denumirea	Expresia uzuală fenotipă		Locul presupus al defectului celular	Mecanismul patogenic cunoscut sau presupus	Ereditatea (transmitere ereditară)	Trăsăturile principale asociate
	deficiențe funcționale	Anomalii celulare				
15. Deficit de lanț Kappa	Ac	↓ Bk	pre-B	necunoscut	necunoscut sau familial	—
16. Sindrom Wiskott-Aldrich	Ac la unii antigeni (în special polizaharide) și IC progresivă	↓ T și B(progresiv)	necunoscut	necunoscut	legat de cromosomX	1) trombocitopenie 2) eczemă
17. D.I. variate (comune și neclasificate)						
a) Deficit predominant de Ig	Ac ± IC	± ↓ B	pre-B sau B în unele cazuri	1) defect B intrinsec 2) Subproducție de B 3) ? ↑ Ts 4) ? ↓ Th 5) autoanticorpi ai limfocitului B	necunoscut sau familial	—
b) Deficit predominant de T	IC ± Ac	↓ T	Timatur sauTh	1) necunoscut 2) autoanticorpi ai celulelor T	necunoscut sau familial	—

LEGENDA

± = creștere sau descreștere a nivelului; CSH= celulă stem hematopoietică; RA= recesiv autosomal; CSL= celulă stem limfoidă; DA= dominant autosomal; IC=imunitate celulară; AC= anticorp;

o alterare la nivel de comandă genetică a sistemului B și mai puțin o disfuncție în cooperarea T—B printr-un deficit de Th, cum s-a arătat în formele dobîndite. Nu se cunoaște însă zona de alterare a comenzii genetice (Jäger, 1976). Este discutabilă o relație sanguină cu grupul Xg (a) (Rose, 1975), precum și posibilitatea de a descoperi tara la mama heterozigotă. Caracterul de boală X-linked cu supresia sistemului B, citologică și funcțională, distinge această boală de alte sindroame X-linked, mai puțin bine caracterizate și legate mai ales de deficitul mixt T și B.

Ținînd seama de deficitul global în sistemul B, explorările diagnostice precizează : 1) scăderea numărului de limfocite B în sîngele periferic, exprimată prin scăderea rozetelor EAC, respectiv a limfocitelor cu Ig ca markeri ; 2) absența foliculilor limfoizi și a centrilor germinativi din ganglionii limfatici și absența plasmocitelor din măduva osoasă și din alte țesuturi ; 3) scăderea globală a Ig sub titrul de 500 mg/100 ml, frecvent chiar sub 100 mg/100 ml. Scăderea este globală : IgG scade de 10 ori (sub 100 mg/100 ml), iar IgM și IgA și mai mult, adică sub 1% din titrul lor normal.

Unele teste clinice de explorare imună sînt de asemenea revelatoare : testele de sensibilizare față de antigenele care dau reacție de sensibilizare imediată sînt negative. Reacția Schick rămîne pozitivă și după vaccinarea antidifterică. Nu apar anticorpi, nu crește titrul de gamaglobuline și nu apar plasmocite în țesuturile imune ca urmare a vaccinărilor antidifterică sau antitetanică. Celelalte sisteme umorale cu implicații imune sînt normale : sistemul C′ și properdinic, capacitatea fagocitară, producerea de interferon, titrul hemaglutininelor alfa și beta. Sistemul T fiind normal, toate testele de explorare ale acestuia în periferie și în organele limfoide centrale sînt normale, inclusiv testele de rejecție a grefei și reacția în cultură mixtă de limfocite.

Absența de anticorpi din deficitul global B condiționează predispoziția mare la infecții repetate și severe, de multe ori mortale, dacă nu se corectează deficitul imun. Predomină din al doilea an de vîrstă, odată cu epuizarea gamaglobulinelor moștenite de la mamă, infecțiile cu piogeni Gram-pozitivi, cu *Hemophillus influenzae*, dar și cu Gram-negativi : infecții cutanate, pulmonare, articulare, predispoziția la septicemii și la meningită. Față de infecțiile virale ale copilăriei și ulterioare există o apărare bună, ca și la copii normali. Nu există vreo predispoziție specială față de infecțiile fungice.

Ca evoluție, boala tratată prin administrare lunară de Ig este compatibilă acum cu o viață lungă. Se administrează preparate în concentrație suficientă pentru a menține un titru global de Ig peste 500 mg/100 ml. Prelungirea duratei de viață din ultimele decenii a arătat că bolnavii fac afecțiuni inflamatorii cu caractere de boli autoimune, în special colagenoze. Apar manifestări articulare de tip PCE sau chiar de boală lupică și dermatomiozită, precum și unele neuropatii degenerative. Explicația acestor afecțiuni care se produc prin autoanticorpi și CI pare paradoxală într-o boală prin lipsă de anticorpi și absența sistemului B diferențiat plasmocitar. Este însă foarte posibil ca, prin infecții repetate, să se producă dereglări imune mai profunde care să afecteze și sistemul T în relația sa cu sistemul B, rezultînd clone de limfocite B supresate față de autoantigene și astfel declanșarea de boală autoimună. Este posibil ca, cel puțin în unele

dintre acestea, leziunile să se producă prin limfocite T autosensibilizate şi mai puţin prin autoanticorpi. Profilaxia cu Ig administrate lunar, în genere în doză de 0,1 g (0,6 ml/kgcorp), previne apariţia bolilor autoimune şi duce chiar la vindecarea celor instalate.

2. *Aplazia timică congenitală — Sindromul Di George*

Descrisă de Di George în 1965, constituie forma tipică de deficit imun izolat de tip T. Pare să nu fie însă determinată genetic, ci printr-o anomalie intrauterină căpătată, care apare înainte de săptămîna a 7-a.

Tulburarea imună este variabilă ca intensitate, existînd şi copii care devin normali după vîrsta de 5 ani (Rosen, 1979). Evoluţia globală rămîne însă gravă întrucît displazia timică este consecinţa unei displazii în buzunarele faringiene 3 şi 4 din care derivă arcul aortic şi paratiroidele. Deficitul imun poartă astfel şi numele de „boala buzunarului faringian 4", la care se asociază anomalii endocrine şi cardiovasculare, unele greu de corectat cel puţin pînă acum cîţiva ani : arcul aortic în dreapta, tetralogia Fallop, coartaţia aortei şi hipoparatiroidismul cu tetanie severă de la naştere.

Deficitul imun de tip T se recunoaşte din primul an de viaţă prin infecţii severe virale şi fungice şi mai puţin prin infecţii bacteriene.

Explorările diagnostice arată : *(1)* integritatea funcţională a imunităţii dependente de sistemul B ; *(2)* alterarea răspunsului mediat celular (de tip T) şi scăderea variabilă a limfocitelor periferice cu diminuarea pînă la dispariţie a limfocitelor T (testul de transformare blastică la PPD şi PHA negative sau foarte slabe ; testul de IMM negativ ; testul de reacţie în cultura mixtă de limfocite negativ ca reactant) ; *(3)* testele clinice de sensibilizare celulară tardivă negative : intradermoreacţia la PPD, la antigenele de candida sau la antigenele de virus urlian ; nu se produce sensibilizarea de contact la DNCB şi copiii nu se imunizează prin BCG şi vaccin antivariolic. Ca urmare a lipsei de răspuns a unei celule specifice, administrarea de agenţi imunizanţi vii atenuaţi poate da infecţii locale şi generale grave, chiar mortale. Aceste accidente sînt bine exprimate în forma severă mixtă de deficit imun, pe cînd în sindromul Di George depind de gradul de depresie a sistemului T care se poate atenua cu vîrsta.

Încercările de reconstituire actuală cu transplant de timus fetal, prin administrarea de mediatori T (Lawrence) sau prin metode propuse de Good (1976) au schimbat evoluţia foarte gravă a deficitelor de tip timic.

3. *Sindromul de deficit imun combinat T şi B sever*

După patogenie şi caracterele imune, această denumire pare cea mai potrivită şi a fost adoptată şi în nomenclatura OMS din 1977. Iniţial, Glanzman şi Reinicker (1950), în Europa, au denumit sindromul ca „agamaglobulinemie de tip elveţian", iar în America a fost descris de către Gitlin

și Craig (1963), însă diferențiat genetic, apărînd X-linked la băieți. Gatti și Good (1968) și recent Good (1976) consideră că nu există diferențe clinice și imunologice între formele clasice descrise inițial în Europa și cele descrise în America. După datele statistice mai recente, există o predominanță la băieți de 3/1; boala este familială, este autosomală recesivă și deci la ambele sexe. Se pare că este condiționată de căsătoriile cosanguine. Forma X-linked la băieți este bine dovedită, apărînd la frații de aceeași mamă și de tați diferiți.

Se mai descriu și forme sporadice care ar putea fi forme timice pure ca sindromul Di George (Jäger, 1976). Cum penetrația tarei pentru deficitul T și B este diferită, se poate ca unele cazuri descrise sub alte denumiri să facă parte tot din grupul de deficit imun combinat, însă cu penetrații diferite pentru una din ramurile deficitare T sau B. Astfel, sindromul descris de Nezelof ca *limfocitoftizie non-agamaglobulinemică* ar fi tot un sindrom mixt cu predominanță de deficit T în sîngele periferic, fără atingere timică centrală și în genere cu titru normal de Ig. Există însă și cazuri de scăderi ale IgG și IgA cu deficit în producerea unor anticorpi; ca și în alte sindroame prin deficit imun, pot să apară autoanticorpi hemolitici.

Patogenic, sindromul de deficit imun global este tipul dereglării imune congenitale, cu incapacitate de proliferare și diferențiere a sistemului limfoid global (T și B). În formele severe, toate organele imune rămîn goale de limfocite, atît în zonele paracorticale T, cît și în zonele foliculare B, cu aplazie timică, absență de plasmocite medulare, aplazie limfocitară în ganglioni și în splină. Releul de proliferare diferențiată imunologic care începe din luna a 3-a a vieții intrauterine se întrerupe la nivel de celule stem nediferențiate; acestea, după Burnet (1959), „ad randum" trebuie să producă clonele specifice de răspuns imun pe linie celulară și umorală și clonele „interzise" pentru toleranța imunologică. În deficitul global este posibil ca disfuncția să se producă în comanda genetică din zona Ir (v. cap. I, E), însă nu se cunosc cercetări speciale la om. Se știe totuși că, în acest sindrom, în forma autosomală, cam la jumătate din cazurile studiate există un deficit foarte important de ADA în țesuturi și în special în eritrocite. Se știe că în timus această enzimă este cel puțin de zece ori mai concentrată și că ar condiționa proliferarea și maturarea diferențiată a limfocitelor T în timus (Bellot și colab., 1976; Rosen, 1979). Există încercări de a găsi un test de diagnostic prenatal prin cultură de fibroblaste (Hirschhorn și colab., 1975). Există de asemenea ipoteza că această atrezie limfoidă globală ar fi consecința unei reacții de grefă contra gazdei din timpul vieții intrauterine. Factorii celulari sau limfokinele de la mamă prin transfer intrauterin, ar agresiona sistemul limfoid al fătului, care apare ca o homogrefă pentru mamă (Jäger, 1976).

În monografia apărută în 1975 am descris în detaliu tabloul de mare severitate clinică și biologică, pe care-l rezumăm în cele ce urmează. Clinic, din primele luni de la naștere, copiii prezintă infecții grave cu fungi și cu piogeni; infecțiile virale au gravitate fulminantă mortală. Infecțiile microbiene și fungice intestinale determină o diaree cronică cașectizantă, la care se adaugă infecțiile bronhopulmonare, care sînt ireversibile și produc moartea copiilor înainte de a împlini un an. Vaccinările antimicrobiene,

care solicită fie imunitatea umorală, fie pe cea celulară (BCG), sînt neeficiente şi primejdioase.

Limfocitoza periferică este redusă sub 500 limfocite. Amigdalele, timusul, ganglionii şi splina sînt atrezice. Timusul nu apare radiografic, iar la necropsie abia se găseşte un nodul mic (sub 1 g) constituit numai din ţesut vasculo-reticular, fără urme de corpusculi Hassal. În măduva osoasă sînt absente limfocitele şi plasmocitele. Ganglionii limfatici şi splina sînt formaţi numai din ţesut conjunctiv, sinusoide, celule reticulare, fără foliculi şi fără cordoane, zonele topografice pentru T şi B fiind hipo- sau aplazice.

Explorările sîngelui periferic arată că numărul de limfocite scăzut se datoreşte deficitului celor două sisteme, cu scăderea masivă a limfocitelor formatoare de rozete E şi EAC.

Imunoglobulinele sînt global scăzute ca şi în agamaglobulinemia Bruton cu titru sub 500 mg/100 ml. Sînt absente, de asemenea, hemaglutininele alfa şi beta şi există deficite în anumite componente ale complementului. Sînt negative testele de hipersensibilizare imediată şi tardivă. Nu se produc nici rejecţia de homogrefă, nici răspunsul în cultura mixtă de limfocite şi nici reacţia grefei contra gazdei cu limfocitele bolnavului. Granulocitele şi monocitele macrofage sînt însă normale ca număr şi funcţii.

Cu toată gravitatea şi eşecurile de tratament de pînă acum cîţiva ani, încercările recente par să corecteze acest sindrom grav, tip de experiment al naturii. Good şi colab. (1976) au obţinut succese prin grefă de măduvă osoasă, prin care au reconstituit sistemul imun prin aport de o nouă populaţie de celule stem limfoide histocompatibile. Rezultate similare au obţinut O'Railly şi colab. transplantînd 50×10^6 celule nucleate. Grefa reuşită restabileşte constantele imune crescînd limfocitele periferice T, care răspund la PHA, precum şi limfocitele B şi plasmocitele care refac imunoglobulinele şi răspund prin secreţie de anticorpi la solicitarea imună.

Există încercări de a induce o reconstituire imună proprie prin aport de eritrocite proaspete, bogate în ADA, stimulatoare pentru diferenţierea sistemului T (Palmer şi colab., 1975 ; Rosen, 1979). Aşa cum afirmă Good, încercările eroice de tratament al deficitelor imune de tip global constituie un exemplu de posibilităţi de corectare a „erorilor înnăscute ale naturii" prin mintea şi acţiunea umană.

◆

În afara bolilor de deficit imun congenital bine individualizate există varietăţi de dereglări imune care pot să caracterizeze anumite sindroame cu expresie clinică sau să determine numai tare imunologice diverse, cu tulburări clinice ocazionale sau permanente, dar de asemenea variabile ca intensitate.

Expunerea lor sistematică este dificilă şi de aceea există multe variante de nomenclatură şi de clasare a lor, atît în comisiile internaţionale, cît şi în tratatele apărute în ultimii 5 ani. Pentru a facilita înţelegerea lor vom folosi experienţa proprie confruntată cu datele de imunopatologie actuală.

În genere, pentru toate aceste grupe complexe se recunosc combinaţii de dereglare ale sistemului T sau B înăuntrul structurilor lor funcţionale sau tulburări ale cooperării sistemelor celulare în răspunsul imun şi toleranţa imună (macrofage, celule T, celule B, plasmocite), ca şi dereglări în asamblările de secvenţă şi de interreacţie ale Ig anticorpi. Dereglările pot

să aibă o cauză genetică în dezvoltarea sistemului imun, uneori sînt asociate cu alte tulburări trofice în dezvoltarea țesutului mezenchimal sau epitelial, endocrin sau hematopoietic. Este foarte probabil ca dereglările să aibă origine în sistemul genetic regulator din paralocusurile MHC. Acestea se resimt în special în sistemul T, care prin receptorii de suprafață recunoaște structurile antigenice self și nonself și determină un răspuns imun echilibrat, eficient față de antigenele nonself. Cauze dobîndite, în care joacă rol infecțiile virale ce pot modifica funcțiile genelor de comandă imună (Broder și Waldman, 1978), precum și deviațiile de proliferare malignă ale SCI, uneori mult timp latente, pot să intervină pentru condiționarea deficitelor imune complexe dobîndite (Berceanu și colab., 1975, 1977, 1978).

O prezentare cît mai completă a acestor forme mixte de deficit imun greu clasabile se poate face ținînd seama de următoarele manifestări clinico-morfologice sau clinico-imunologice :

1) Deficit de apărare față de anumite infecții microbiene, fungice sau virale.

2) Boli autoimune mai mult sau mai puțin controlate care se intrică concomitent sau ulterior cu semnele de deficit imun.

3) Boli de hipersensibilizare prin CI cu self-perpetuare prin incapacitatea eliminării antigenelor și a CI.

4) Boli limfoproliferative ale celulelor SI, caracterizate ca LLC, LLA, mielom, boală Hodgkin sau limfoproliferări de graniță, cunoscute acum ca paralimfoame.

5) Asocierea la unele semne de deficit imun a tulburărilor de deficit hematopoietic, cu trombocitopenie sau leucopenie, precum și dereglări ale sistemului mezenchimal vascular epitelial, endocrin sau ale SNC.

6) Unele afecțiuni degenerative hepatice sau renale, cu sau fără prezența unui agent infecțios (microbian, viral sau parazitar), pot să fie manifestări sau complicații ale unei stări complexe bine sau vag caracterizate de deficit imun.

În cadrul acestei scheme de manifestări vom prezenta formele sau grupele de deficit imun descrise variat de autorii actuali, precum și pe baza confruntărilor cu prezentările noastre anterioare (Berceanu, 1968, 1975).

B. *Grupul mixt de „disgamaglobulinemii" ca deficit predominant în sistemul B*

Deși nu mai apar ca un grup omogen și nu sînt recunoscute în simpozioanele OMS recente, ca și în monografia din 1975 considerăm că tratarea disgamaglobulinemiilor ca un grup aparte este utilă, cel puțin ca punct de plecare în explorările de diagnostic.

În acest sens, clasificarea bolilor prin deficit imun și a disgamaglobulinemiilor, după Berceanu (1975), este următoarea :

Există posibilitatea ca la un bolnav să apară o disociere a claselor de Ig în cadrul răspunsului imun anticorpic, astfel ca unele clase să fie în

deficit, iar altele să fie normale sau în exces. Tulburarea apare ca o dereglare clonală prin disocierea cooperării Ts — Th faţă de clonele de limfocite B care urmează să secrete o anumită clasă de Ig. Schema simplificată ne poate explica diverse posibilităţi de dereglare în care intră şi cele 7 tipuri de dereglare disglobulinemică. Este sigur că ele sînt mult mai multe şi fiecare bolnav poate să aibă o dereglare fenotipică proprie şi de aceea mulţi autori nu acceptă o grupare numai în 7 tipuri. Avînd în vedere însă că unele din ele constituie entităţi clinice bine caracterizate considerăm încă utilă gruparea lor.

Sindroame prin dereglări în sistemul timic (Lc. T) — parţiale — globale	— sindrom Di George — aplazie limfocitară normoglobulinemică (Nezelof) — displazie timică combinată (agamaglobulinemie cu limfopenie) — disgenezie reticulară (deficit imunoglobal cu aleucocitoză)
Sindroame prin dereglări în sistemul bursal (Lc. B, plasmocite)	— agamaglobulinemie tip Bruton (Xlinked) — agamaglobulinemie idiopatică IgA tardivă (sprue) — hipogamaglobulinemie postnatală (18—30 luni) — disgamaglobulinemii
Sindroame complexe cu disglobulinemii de : — deficit de sinteză — hipercatabolism — pierderi — interreacţii anormale	tip I : deficienţă de IgA, IgM. IgG aparent normal tip II : deficienţă de IgG, IgA. IgM crescut. tip III : deficienţă izolată de IgG tip IV : deficienţă izolată de IgA (ataxie teleangiectazică) tipV : deficienţă izolată de IgM (sindrom Wiscott-Aldrich) tip VI : nivele IgG, IgA, Ig Maparent normale tip VII : deficienţe de IgG. IgM. IgA crescut

Ceea ce trebuie reţinut ca nou de către clinician este faptul că aceste dereglări combinate în secreţia de Ig nu sînt o consecinţă numai a deficitului în sistemul B, ci şi în sistemul T. În plus, de cele mai multe ori nu există modificări cantitative, ci numai funcţionale ale celulelor limfoide centrale sau periferice. Disfuncţia poate să apară printr-o inerţie de răspuns al celulelor B, care au markeri normali dar apar ca inerte faţă de stimulul antigenic. În plus, dereglarea trebuie considerată mai ales în cooperarea T — B, în care cercetările actuale pun în evidenţă o hiperfuncţie a Ts şi o hipofuncţie a Th.

Pe baza unei analize a literaturii recente privind deficitele imune anticorpice, comisia OMS (1977) le consideră greu clasificabile şi le denumeşte „imunodeficienţe variabile". Toate apar ca primare, unele congenitale cu debut în copilărie, non-X-linked, ca hipogamaglobulinemii sau disgamaglobulinemii primare. Apar şi la adult, ca diverse combinaţii de deficit T şi B, ca disgamaglobulinemii primare dobîndite.

Ţinînd seamă de combinaţiile mecanismelor de producere (Ciccimara, 1976 ; Couhra şi colab., 1977 ; Cooper şi Seligman, 1977) cu modificări cantitative şi calitative în disfuncţiile T—B, comisia OMS separă 5 grupe care pot condiţiona cele 7 tipuri de disgamaglobulinemii menţionate :

În *grupa I* sînt cuprinse disgamaglobulinemiile prin deficit global al celulelor B. O cauză posibilă ar fi incapacitatea de proliferare a clonei de celule stem în diferenţiere spre celule B. Tulburarea apare ca un deficit global de celule pre-B.

În *grupa a II-a* sînt incluse alterări prin populaţii B normale morfologic însă cu un deficit intrinsec funcţional, care determină areactivitatea la stimularea antigenică policlonală. Nu s-a evidenţiat un defect în relaţia T — B.

În *grupa a III-a*, celulele B răspund la stimulatori, secretă Ig intracelulare, însă nu le eliberează în circulaţie ; se recunosc prin absenţa receptorilor pentru virusul Epstein-Barr (Geha şi colab., 1974).

În *grupa a IV-a*, populaţia B răspunde la stimularea policlonală *in vitro*, dar nu şi *in vivo*, ceea ce denotă un deficit intrinsec sau prezenţa unui inhibitor circulant.

În *grupa a V-a*, tulburarea apare tipică de deficit B prin activitate crescută de Ts. Cercetările *in vitro* arată că celulele B pot produce Ig dacă sînt separate de T (Waldman şi Broder, 1977).

Sînt posibile şi alte forme de deficite imune, în special prin dereglarea cooperării T — B. În afara hiperactivităţii de Ts există un deficit funcţional sau numeric de Th, care explică multe forme de deficit anticorpic faţă de antigenele cu răspuns imun timus-dependent (Finti şi colab., 1977).

În disfuncţia T — B s-a descris recent (Gelfand şi colab., 1979) o distribuţie anormală a receptorilor pentru con A, atît la celulele B, cît şi la T. Deficitul de reglare a sistemului T dovedeşte o strînsă dependenţă între capacitatea de reactivitate a structurilor de suprafaţă şi cele interne, genice, care comandă proliferarea diferenţială (Yahara şi Edelman, 1975). Răspunsul imun este defectiv pentru antigenele microbiene T-dependente, deşi există o secreţie normală de Ig.

Raportul OMS aminteşte şi existenţa autoanticorpilor anti-B şi anti-T, care apar ca limfocitotoxine atît în condiţii primare, cît mai ales secundare şi care diminuă celulele efectoare ale SI (Tursz, 1977).

Studii analitice recente (Evans şi colab., 1977, 1978 ; Stelkaoskos şi colab., 1978) s-au realizat pe subpopulaţii speciale de limfocite, denumite prin dependenţa de sistemul HLA ca limfocite Th2 + şi TIa +, care au efect supresor asupra limfocitelor B. În bolile autoimune se observă o dispariţie sau o scădere importantă a acestor populaţii, ceea ce face să prolifereze clonele de celule B în deleţie pentru antigenele proprii. În agamaglobulinemie există din contră o predominanţă a celulelor Th2, care cresc de la 20% pînă la 80% din populaţia sistemului T. Această creştere inhibă sinteza de Ig în populaţia B şi răspunsul anticorpic. S-a demonstrat *in vitro* o

inhibiție a secreției de Ig de către limfocitele normale puse în prezență de limfocite T de la bolnavi cu agamaglobulinemie.

Dintre numeroasele posibilități imunoclinice de disglobulinemii cu deficite de secreție ale uneia sau mai multor Ig se conturează cîteva sindroame bine caracterizate.

1) **Ataxia telangiectazică** (sindromul Louis Bar) apare ca un deficit selectiv de IgA, adică o disgamaglobulinemie de tip IV.

Sindromul are caracter congenital și se caracterizează prin tulburări de ataxie cerebeloasă la care se adaugă mai tîrziu ectaziile vasculare pe conjunctive și în zonele cutanate expuse la lumină. Displazia neurovasculară este asociată cu deficitul imun de secreție a IgA în ser și în intestin la 80% din cazuri. Pe lîngă secreția scăzută de IgA s-a descris și o scădere a duratei lor de viață prin anticorpi anti-IgA. S-au semnalat în plus autoanticorpi față de tireoglobuline, fibrele musculare netede, celulele parietale gastrice; în cazuri rare s-a semnalat scăderea de IgG și de IgE (Webster, 1977). Tulburările digestive cu disbacteriemie și cu sindrom de malabsorbție sînt comune acestor forme de deficit IgA.

Există cazuri cu deficite imune mai complexe care, pe lîngă o scădere de IgG, arată și anomalii timice, la necro limita dintre corticală și medulară fiind ștearsă, iar corpusculii Hassal lipsesc. Această disfuncție timică dovedește în plus că disgamaglobulinemia este o dereglare a cooperării T — B.

Din punct de vedere genetic este autosomal recesivă (Mc Farlin și colab., 1972) și uneori prezintă disfuncții ovariene și dereglări în metabolismul glucidic. În formele severe, ataxia apare în perioada cînd copilul începe să meargă. Copiii mor în prima decadă de vîrstă prin infecții mai ales pulmonare. Cam 10% supraviețuiesc în a doua decadă, dar mor prin limfoproliferări maligne, foarte puțini ajungînd vîrsta de 50—60 de ani.

Tratamentul este aproape numai simptomatic, avînd în vedere complexitatea patogenică a sindromului. Reconstituirea imună prin grefă de timus nu a dat rezultate. Corectarea deficitului de IgA este dificilă căci nu există preparate pure de IgA, iar administrarea de plasmă totală poate da reacții anafilactice severe întrucît există anticorpi anti-IgA.

2) **Sindromul Wiscott-Aldrich** apare ca o disgamaglobulinemie de tip V, cu scăderea de IgM, clasele IgG și IgA fiind normale sau crescute. Descris mai de mult de Aldrich, apoi precizat ca afecțiune ereditară X-linked la băieți (Cooper, 1968),constă din tulburări imune cu mare tendință la infecții spre vîrsta de 10 ani. Deficitul de apărare este față de germeni cu antigene mucopolizaharidice care necesită anticorpi IgM, răspunsul imun fiind normal față de germenii cu antigene proteinice. Cele mai frecvente infecții sînt pulmonare, cu pneumococ, față de care activitatea bactericidă este redusă după o fagocitoză cu opsonizare insuficientă (Cooper și colab., 1968; Kay, 1970). Infecții grave se produc și cu virusuri și fungi, ceea ce denotă un deficit imun de tip T. Limfocitele periferice pot să fie scăzute, răspunsul la PHA este în genere normal, deși transformarea blastică prin alte antigene ca și rejecția de grefă și sensibilizarea la DNBC sînt discutabile, cu scădere în multe cazuri. În alte cazuri s-a găsit o scădere de IgG cu creștere de IgA și IgD, IgE fiind mult crescut. După Webster, scăderile de IgM sînt la 60% din cazuri, iar creșterile de IgE condiționează reacții de hipersensibilizare la

45% din cazuri. Alfa și beta-hemaglutininele sînt scăzute, ca și anticorpii față de *E. coli*.

Diagnosticul se pune la copii pe triada clinică: eczema atopică, tendința la infecții și sindromul hemoragic prin trombocitopenie, ca dereglare hematologică asociată.

Moartea survine în genere prin infecții în care deficitul de apărare este determinat de hipodisgamaglobulinemie, însă posibil și prin deficit funcțional de limfocit T. Alți bolnavi mor prin hemoragii grave viscerale sau prin transformare în limfoproliferări maligne. Deficitul plachetar este numeric, dar și funcțional, cu lipsa de agregare la ADP, cu scurtarea duratei de viață și sechestrare în splină. Splenectomia, în cazuri bine selectate, ca și corticoizii au dat unele rezultate bune. Grefa de timus pare ineficientă, pe cînd grefa de măduvă osoasă și injecțiile cu un factor de transfer au dat rezultate în mai multe cazuri. Webster (1977) recomandă gamaglobulină pentru a preveni infecțiile și transformarea malignă limfoidă ulterioară.

3) **Deficitul izolat de IgA** constituie o cauză de tulburări patologice complexe, în special în tractul digestiv și respirator. Multe statistici arată însă că la 1/500 din persoanele aparent normale există un deficit de IgA (sub 5 mg/100 ml), iar la 0,03 — 0,04% din populație lipsește total. Frecvența infecțiilor apare numai la 15% din agamaglobulinemii IgA, însă cu timpul apar multe alte tulburări care denotă o disfuncție mai profundă, la nivel de reglare T — B, în genere cu evoluție spre manifestări autoimune.

Alterarea majoră, precizată prin biopsia peretelui canalului intestinal, constă în absența plasmocitelor secretoare de IgA (cele secretoare de IgM sînt foarte abundente).

Deficitul izolat de IgA este cauza majoră a enteropatiilor cu sindrom de malabsorbție, în care unele antigene alimentare produc leziuni prin legare ca CI în tubul digestiv. Se recunosc apoi deficite de IgA în multe domenii de patologie autoimună, în special în colagenoze și în hepatita cronică agresivă. În statistica lui Jäger (1977), colagenozele apar în 15% din cazurile cu deficit de IgA, PCE 18%, LED 17%, tiroidita autoimună 6%, anemia Biermer 4%, hepatita agresivă 3%, ceea ce înseamnă o incidență a bolilor autoimune de 50%, pe o statistică cu 150 de cazuri cu deficit IgA.

Bolile digestive cu etiologie microbiană au la bază deficitul global de Ig și mai frecvent de IgA. Celulele secretoare de IgA constituie 65—80% din plăcile Payer, iar raportul IgG/IgA/IgM este de 1/22/3. Infecțiile cronice cu giardia, sindroamele de malabsorbție care apar la copil cu aspect de sprue, precum și enteropatia glutemică au la bază deficite imune în peretele intestinal.

Hiperplazia limfoidă nodulară este localizată în ileonul terminal și în colon și se caracterizează clinic printr-un sindrom dureros recidivant cu sîngerări. Hiperplazia nodulară este rezultatul unei hipersecreții de Ig, cu mare hiperplazie limfoplasmocitară, pe un fond de deficit de IgA.

Multe boli cronice digestive, cum sînt colita ulceroasă și boala Krohn, pot fi interpretate ca asocieri de infecții prin deficit de IgA secretorie, cu reacții autoimune la care se asociază leziuni de complexe imune în peretele intestinal. Aceste leziuni intestinale vor determina la rîndul lor un sindrom de pierdere a proteinelor, care accentuează hipogamaglobulinemia globală și selectivă de IgA.

C. *Alte deficite selective de imunoglobuline*

În genere în infecțiile recidivante cu anumiți agenți infecțioși sau în manifestările de boală autoimună, analizele de imunofluorescență și imunoelectroforeză pun în evidență deficitul anumitor clase sau subclase de Ig. Webster citează un caz de deficit IgG cu incapacitate de a neutraliza toxinele microbiene,iar clinic cu repetate infecții; boala ceda la terapia cu gamaglobulină, deși avea o hepatită cronică, care se ameliorează la rîndul ei.

Există apoi *deficit de subclase IgG* la bolnavii cu anumite infecții și la care titrul de IgG global este normal. Considerînd rapoartele subclaselor de IgG ca fiind IgG_1 70%, IgG_2 20%, IgG_3 5% și IgG_4 4%, deficitul de apărare prin IgG poate să apară prin scăderea răspunsului imun anticorpic față de acele antigene care solicită un răspuns imun anticorpic cu o anumită subclasă de IgG. Se citează bolnavi cu deficit selectiv de IgG_2 și IgG_4 care nu răspund eficient la infecțiile cu germeni cu antigene polizaharidice. Infecțiile cu germeni cu antigene proteinice (tetanos, difterie) solicită însă un răspuns imun cu toate clasele de IgG, astfel că deficitul unei subclase nu are expresie clinică față de alte infecții, celelalte clase asigurînd răspunsul.

Administrarea de gamaglobulină integrală (conținînd toate clasele IgG) corectează foarte bine deficitul de subclase.

Deficitul izolat de IgM este foarte rar și se manifestă cu infecții recurente. Se va suspecta la copiii cu meningită meningococică și la cei cu vaccină generalizată.

Deficitele de IgD sînt greu de apreciat întrucît această Ig se determină dificil cantitativ la normali.

Deficitele de IgE se vor presupune la bolnavii cu infecții repetate care nu au deficit imun al celorlalte clase sau subclase. Se vor suspecta mai ales la cei cu infecții repetate cutanate și mucoase (Jäger, 1976). Există însă deficite de IgE fără manifestări clinice. În ataxia telangiectazică deficitul de IgE (sub 15 ng/ml) se intîlnește la 70—80% din cazurile cercetate, de cele mai multe ori asociate cu deficitul de IgA.

D. *Hipogamaglobulinemia dobîndită primară la adult*

Deși a fost amintită în nomenclatura OMS ca „varied immunodeficiency", iar într-un raport mai vechi „common variable immunodeficiency" (1971) o vom trece în revistă ca un sindrom complex cu intricare de deficit B și T, așa cum se conturează în momentul de față.

Încă dinainte de 1970, Patterson, delimitînd acest grup de formele primare genetice la copil, a folosit termenul de „hipogamaglobulinemie dobîndită primară", care este potrivit pentru boala adultului, dar insuficient pentru a cuprinde toate variantele cunoscute în prezent. Hermans și colab. (1976) constată că în majoritatea cazurilor de deficite imune congenitale la copil nu există un deficit global numeric de celule T și B, ci în genere o dereglare a funcției acestora, a cooperării lor și în special a coope-

rării între Ts și Th. Deficitul de Ig este variabil, predominînd în genere deficitul de IgA.

Ca manifestări clinice predomină afecțiunile intestinale prin infecții cronice cu *Salmonella* și *Giardia* și prin sindromul de malabsorbție. Ținînd seama de unele lucrări mai vechi și mai recente, care descriu asocieri cu diverse sindroame, deficitele imune variabile trebuie interpretate în cadrul mecanismelor imunopatologice clasate în 5 grupe de Comisia OMS (Giant și Wallace, 1954 ; Darnis și colab., 1970 ; Gelzayd și colab., 1971 ; Anert și colab., 1972 ; Jäger, 1976 ; Walter, 1976), avînd ca expresie clinică manifestările infecțioase, în special digestive și respiratorii, tendința la cancerizare sau la boli autoimune. De remarcat frecvența complicațiilor digestive la adult și a celor articulare la copil.

Din punct de vedere imunologic deficitul constă din absența unui răspuns imun adecvat față de anumiți germeni care dau infecții bronho-pulmonare (*Hemophillus influenzae*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *E. coli*) și intestinale (*Giardia*, *Salmonella*). Fără îndoială că multe din dereglările imune din acest grup iau aspect de disgamaglobulinemii, așa cum au fost descrise în capitolul precedent.

Aparatul celular imun are anumite modificări, la 20% din cazuri găsindu-se o splenomegalie, iar la 40% evoluție spre limfoame. Există evidente semne de deficit imun T, cu reacții negative pentru antigenele de sensibilizare tardivă și fără transformare blastică la PHA. Acest deficit celular nu corelează însă decît rar cu o scădere de limfocite T periferice, ceea ce denotă în primul rînd o disfuncție a acestui sistem care se repercută în cooperarea cu limfocitul B sau în cooperarea Th — Ts.

La bolnavii cu diaree se depistează giardioză în 64% din cazuri. Acest polimorfism de tulburări digestive necesită investigații endobioptice în toate segmentele, începînd cu stomacul și terminînd cu rectul. Toți autorii remarcă leziuni caracteristice de atrofie a glandelor și vilozităților și de infiltrație limfoidă cu sau fără hiperplazie nodulară. În aceste infiltrații se găsesc atît limfocite T, cît și limfocite B. Cercetările sistematizate arată însă în genere fie deficit de diferențiere a limfocitelor B în plasmocitele secretante (Cooper și colab., 1971), fie un deficit selectiv în secreția de Ig, mai ales de **IgA**, tulburare atribuită disfuncției de T care stă la baza infecțiilor (Schiff și colab., 1974). Atrofia gastrică și intestinală cu evoluție spre cancer și spre anemie Biermer este tot o consecință a disfuncției T în cooperare, cu predominanță de Ts și în unele cazuri de Th pentru reacțiile față de autoantigene. Rolul infecțiilor nu apare totdeauna foarte important în această patologie digestivă întrucît ar fi necesare 10^7 bacterii/ml pentru sindromul de malabsorbție, concentrație care nu se găsește totdeauna. În plus, sindromul de malabsorbție poate să existe și cu prezența de celule care secretă toate Ig în intestinul subțire și intestinul gros, ceea ce atestă mai mult o disfuncție anticorpică (Broam, 1975).

Asocierea timom și hipogamaglobulinemie a fost semnalată mai demult (Gafni și colab., 1960 ; Jacon și colab., 1964) ; după Webster (1977), asociația există la 2% din cazuri. De aceea, prin metode de radiografie și pneumo-mediastinografie se va completa cercetarea tumorii timice care este în genere benignă. Hipogamaglobulinemie variată cu tendință la infecții apare însă și în sindromul de asociere timom cu miastenia gravis, cu evoluție gravă și eritroblastopenie pură.

Predispoziția și asocierea cu cancere digestive, carcinoame, limfoame sau melanoame este o problemă foarte mult dezbătută, mai ales pentru bolnavii cu limfoproliferări maligne (Berceanu și colab., 1967, 1975, 1976, 1978; Dutz și colab., 1978; Lennert și colab., 1978). Hermans și colab. (1976) găsesc o transformare malignă la 12 din 50 de bolnavi urmăriți, dintre care 4 în stomac. După Webster, statistica engleză nu arată însă o asociere a cancerului cu aceste forme de disfuncții imune. După Kersey (1973) însă, 10% din disglobulinemiile cu sindrom Aldrich-Wiscott și ataxie telangiectazică evoluează spre limfoame maligne, în genere după o evoluție cu manifestări autoimune.

În statistica raportului OMS (1977) incidența neoplasmelor în deficitele imune, raportate pe vîrste la normali este de 100—200 de ori mai mare. Statistici realizate la peste 700 de cazuri cu deficite imune primare arată o malignizare la 1,7%; pe un alt lot, de 496 de cazuri, malignizarea era la 3,2% (Kersey și colab., 1974; Kabayashi și colab., 1977). De remarcat că frecvență mare apare la anumite tipuri de deficite imune; în formele X-linked malignizarea crește la 6,9%. Din sarcoamele înregistrate, 65—70% sînt ale sistemului limforeticular, ceea ce atestă ipoteza noastră asupra limfoproliferărilor maligne după hiperstimulare în condiții de deficit imun. Este posibilă o scădere a fenomenului de *supraveghere imună* anticanceroasă care se adaugă la deficitul de supraveghere imună anti-nonself, predispunînd la infecții virale oncogene (Burnet, 1970; Tokemoto și colab., 1974).

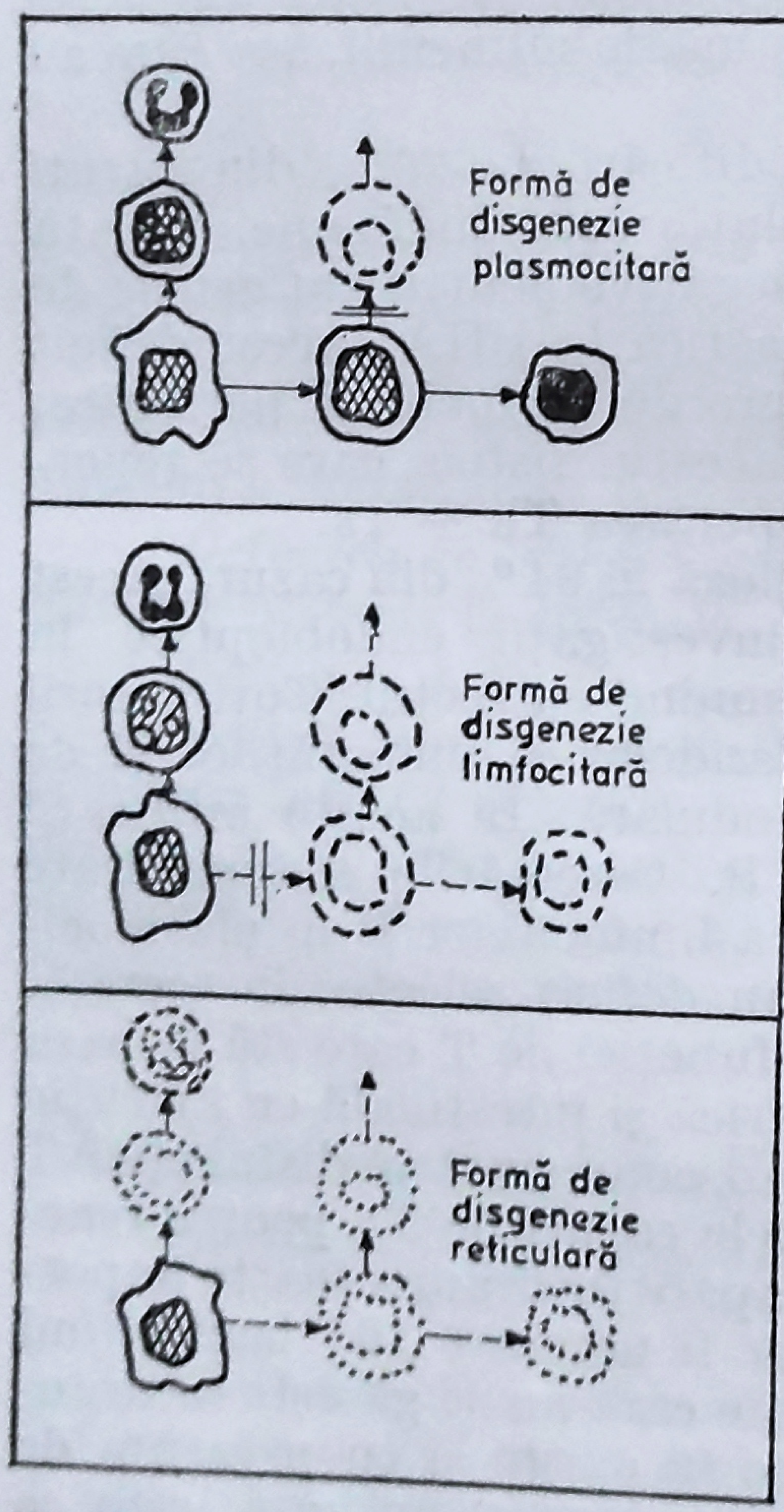


Fig. 26. — Dereglarea cooperării celulare în deficitul global imunohematopoietic (disgenezie reticulară).

Alte asocieri între sindroamele de hipogamaglobulinemie dobîndită semnalate de majoritatea autorilor sînt mai ales cu următoarele afecțiuni: boli de piele cu eczeme, psoriazis și vitiligo, sindroame alergice prin sensibilizare la penicilină și alte droguri (10% din cazuri), manifestări de urticarie, rinită, astm bronșic. La copii este frecventă bronșectazia și uneori o granulomatoză intestinală asemănătoare cu sarcoidoza. La 5% din cazuri apar manifestări hepato-biliare, în genere cu angiocolită ascendentă din flora tubului digestiv. În statistica lui Herman apar de asemenea asocieri cu boli de tiroidă în 6 cazuri dintre care 2 mixedeme. Manifestări de poliartrită frecvente în formele congenitale la copii apar numai la 8% din cazuri. Hemocitopeniile autoimune sînt sporadice și se explică în plus prin hipersplenismul frecvent mai ales la cei cu splenomegalie.

În sindromul descris ca anomalie Giedion-Scheidegger disgamaglobulinemia se caracterizează prin scăderea de **IgA** și **IgM**, IgG rămînînd normal sau crescut, ceea ce predispune la infecții față de majoritatea agenților infecțioși ca în orice disgamaglobulinemie.

Sindromul de disgenezie reticulară sau sindromul Wood este o tulburare gravă, dar foarte rară : au fost descrise 4 cazuri (insuficient studiate întrucît copiii mor la cîteva zile de la naștere). Dereglarea constă dintr-un deficit profund de diferențiere a celulei stem, atît spre sistemul limfoid, cît și spre cel mieloid (fig. 26). Semnalat de noi în monografia apărută în 1968, este amintit în noile tratate și în raportul OMS din 1977.

E. *Imunodeficitele secundare*

Sub această denumire se înțeleg stările de deficit variat de răspuns imun, în genere combinat T și B, cauzate de anumite stări care afectează capacitatea normală de homeostazie a organismului.

Există însă o relație sigură între statusul imunologic de bază genetic și noua stare patologică instalată, în sensul că primul condiționează pe al doilea, iar acesta agravează în plus deficitul imun bazal. Din acest punct de vedere deficitul imun secundar apare ca o adevărată complicație în evoluția altor afecțiuni care s-au instalat la un individ cu un anumit deficit imun primar, în genere parțial și pînă la o vîrstă latent. După componenta patologică care condiționează sau relevă și agravează un deficit imun primar, formele de deficit imun secundar se pot împărți în următoarele grupe după frecvența lor (tabelul nr. 12) :

1) Deficite imune secundare în neoplazii și în special în neoplaziile SCI, care vor fi tratate aparte.

2) Deficite imune secundare din anumite infecții fie acute ca virozele, fie cronice și uneori permanente ca tuberculoza, lepra anumite parazitoze.

3) Deficitele imune în alterările metabolice și toxice din bolile renale cronice, diabet, malnutriție.

4) Deficite imune prin pierderea de Ig, semnalate în patologia digestivă imună, precum și pierderile renale din sindromul nefrotic, arsuri, limfangectaziile intiestinale.

Urmînd schema raportului OMS din 1977, completată cu alte date, se pot contura pentru fiecare grup aspecte clinice utile practicianului.

Dintre infecții (v. cap. III, E), tuberculoza afectează răspunsul imun în special în componenta imună celulară la nivel de limfocit T și macrofag. Deficitul imun T este evidențiat prin intradermoreacții negative în anumite faze anergice, în granulie și în formele cu leziuni ulcerocazeoase, cînd testele de transformare blastică la PPD și PHA diminuă. Deficitul poate fi determinat de limfocitotoxine circulante cu efect depresiv pentru limfocitele T, stare care va determina un deficit general cu depresiune în activarea macrofagelor. În serul bolnavilor s-a găsit o alfa$_2$-macroglobulină care inhibă intradermoreacția și transformarea blastică la PPD (Webster, 1977).

Tabelul nr. 12

Clasificarea și caracterele deficitelor imune secundare (după Webster, 1977)

Boli asociate cu infecții recurente	Infecții recurente fără semnificație clinică majoră
Leucemie limfatică cronică, Mielom (H); Boala Hodgkin (C)	*Boli limfoide și mieloide* Alte paraproteinemii (H) Alte boli maligne limfoide și mieloide (C)
Malnutriție proteică (C+H)	*Metabolice* (C) Uremie Diabet Hipotiroidism Deficit fier și vit. C Deficit cianocobalamină II
Malarie, Tripanosomiază (H)	*Infecții* (C) Rujeolă Mononucleoză infecțioasă Tuberculoză Sifilis Lepră Hepatită virală
	Boli inflamatorii cronice (C) Artrita reumatoidă Sindrom Sjögren Ciroza biliară
	Granuloame (C) Sarcoidoză Boala Whipple Boala Crohn Granulomatoza Wegener
Nefroză, Enteropatie cu pierdere de proteine, Arsuri (H)	*Stări hipercatabolice și cu pierdere de proteine* Distrofie miotonică
	Alte situații (C) Îmbătrînire Malignitate Sarcină

(C) = Afectează predominant imunitatea celulară
(H) = Afectează predominant producția anticorpi

Scăderea puterii bactericide pentru macrofagele epitelioide încărcate cu bacil Koch se explică pe această cale. În stările de hiperreactivitate din anumite forme de tuberculoză, limfocitul T este puternic reactiv și *in vitro* secretă bogat MIF care contribuie la hipersensibilitatea cutanată tardivă (v. cap. III, D).

Lepra este infecția tipică care se grefează pe o stare de deficit imun celular, accentuată prin progresia infecției. În forma diseminată, diminuă răspunsul la PHA, rejecția de grefă și sensibilizarea la DNCB, care erau prezente în forma tuberculoidă inițială. Există ca și în tuberculoză un deficit al macrofagelor, care contribuie la diseminarea infecției (Webster, 1977). Succesul unor tratamente prin transfer de limfocite sau de factori de transfer limfocitar de la bolnavi în faza tuberculoidă la cei cu diseminare, atestă evoluția deficitului imun în lepră.

Infecțiile parazitare (v. cap. III, E) sînt un model de „infecție oportunistă" în care agentul proliferează pe un fond de deficit imun primar sau secundar, ca în limfoamele maligne sau după chimioterapie. Unele parazitoze cu răspîndire în zonele subdezvoltate, ca malaria și tripanozomele, sînt condiționate de o stare de malnutriție, cu deficit imun secundar, accentuat prin parazitoze. Tripanosoma gambiană produce un deficit imun celular și o dereglare în secreția de Ig, cu apariția de lanțuri ușoare în urină. Antigenele parazitare produc în plus o stimulare nespecifică asupra limfocitelor B cu secreție crescută de IgM, dereglînd răspunsul imun anticorpic față de alte infecții. Deficitul la nivel de macrofage s-a dovedit mai ales în malaria experimentală, unde parazitarea acestor celule diminuă procesul de prezentare a antigenului de către macrofage celorlalte celule cu care cooperează în răspunsul imun (Warren și colab., 1976; Brown și colab., 1977).

Cercetări experimentale și mai puține la om arată un deficit imun anticorpic sau celular în diferite parazitoze cu protozoare și cu helminți.

Există cercetări care arată că deficitul imun anticorpic față de alte infecții se datorește hiperstimulării imune prin prezența paraziților care mențin o hipergamaglobulinemie policlonală permanentă ce împiedică adaptarea SCI la noi răspunsuri imune. Testul *in vitro* cu celule splenice de la bolnavi cu tripanozoma arată un deficit al secreției de Ig după stimularea cu lipopolizaharid (Hudson și colab., 1976; Corsini și colab., 1977).

S-a pus în evidență existența de factori citotoxici pentru limfocite la animalele infectate cu *Trichinella spiralis* (Faubert și Tanner, 1975) sau cu *Fasciola hepatica* (Goose, 1977). Factori cu caracter supresiv pentru limfocite s-au izolat și din culturile de *Schizostoma* și de *Tripanosoma gambiense* (raport OMS, 1977). Se admite că, în stările parazitare, deficitul imun indus secundar de prezența parazitului este condiționat și de o stare de malnutriție, care reduce reactivitatea generală.

Candidioza cronică cutaneo-mucoasă este o afecțiune a copiilor la care există probabil tare genetice de deficit imun celular, precum și alte anomalii endocrino-metabolice, mai ales hipoparatiroidism (Webster, 1977). Testele imunologice arată la unii un deficit T, pe lîngă deficitul de răspuns specific la antigenele de candida și de eliberare de MIF.

Încercările de tratament cu factori de transfer (FT), concomitent cu amfotericină B, feroterapie și corectarea insuficienței paratiroidiene dau rezultate bune fără a se putea conchide asupra efectului sigur al corectării imune prin FT.

În *infecțiile virale* (v. cap. III, E) deficitul imun a fost semnalat încă demult (Von Pirquet, 1908) în stările denumite „anergice" după febrele eruptive la copii; la acestea trebuie adăugate gripa, rubeola,

hepatita acută și altele. Burnet (1960, 1962, 1970) aduce argumente de patologie genetică care urmăresc să dovedească că gravitatea și prelungirea infecției virale la copil sînt determinate de un deficit imun celular de bază. Multe din afecțiunile autoimune în care se incriminează persistența de virusuri (LED, neuropatii demielinizante) s-ar datora unei disociații între imunitatea celulară și cea umorală. În prezent se admite că dereglările imune din viroze sînt în mare parte cauzate de acțiunea directă a virusurilor asupra SCI atît la nivelul reglării genetice (Broder și Waldman, 1978), cît și la nivelul sistemului limfoid periferic sau macrofagelor. Se consideră că dereglarea centrală ar interesa cooperarea T—B, fie prin alterarea funcției de recunoaștere a antigenelor de către celulele T infectate viral, fie prin predominanța Ts față de Th (Huang și colab., 1973; Kantu, 1975). Există cercetări care arată disfuncția limfocitelor T prin factori supresori și factori solubili cu acțiune limfocitotoxică. Avînd în vedere că anumite virusuri se localizează și se replică în celulele limfoide (ca virusul Epstein-Barr), acestea devin fie inerte la stimulul altor antigene, fie secretoare, de factori autocitotoxici. Se explică pe această cale deficitul imun, predispozant la infecții bacteriene bronhopulmonare, otice sau meningeale, ce apare după o gripă, rujeolă și alte infecții virale (Coovadia și colab., 1977).

Probleme similare ridică afecțiunile virale la nou-născuți, rubeola și infecțiile cu citomegalovirus. Copiii se nasc cu infecții căpătate în perioada prenatală, avînd un deficit al IgA și IgM și un răspuns deficitar la PHA. În rubeola congenitală există și un deficit în raportul IgG/IgA, scăderea IgA fiind probabil un efect al infectării virale clonelor de limfocite B secretoare de IgA (South și colab., 1975).

Deficite imune secundare unor boli cronice consumptive. Sînt cunoscute infecțiile repetate și gravitatea lor în boli toxice endogene și nutriționale. Cercetările ultimilor 10 ani au arătat deficite imune combinate, implicînd sistemele T, B și fagocitele.

În diabet, stările septice și tendința la abcese greu vindecabile se datoresc în mare parte alterării funcțiilor complexe ale granulocitelor, ca aderența, diapedeza, funcția fagocitară și mai ales funcția bactericidă (Drachman și colab., 1966; Brayton și colab., 1970; Bogdansky și Stewart, 1976). Disfuncția bactericidă nu s-ar ameliora prin scăderea glucozei după insulină. După Molennar și colab. (1976), toate *deficitele granulocitului* nu ar fi secundare hiperglicemiei, ci ar fi determinate de un deficit genetic comun, care ar afecta receptorii de membrană celulară pentru insulina necesară proceselor metabolice endocelulare.

În bolile de rinichi în fază uremică există de asemenea deficite ale funcției granulocitelor, dar mai ales ale imunității umorale și celulare. Intradermoreacțiile de tip tardiv sînt diminuate, ca și răspunsul blastic la mitogenele nespecifice (Nachlo și Coggin, 1973). Studiile făcute la bolnavii supuși la hemodializă în afara stărilor uremice arată prezența în plasmă de inhibitori ai transformării blastice, precum și un deficit celular al limfocitelor determinat de acidoza intracelulară (Weber și colab., 1976).

În nefropatiile cu sindrom nefrotic și în sindromul nefrotic pur există un deficit imun anticorpic cu scădere de Ig, datorită eliminării selective de IgG și ulterior de IgM, precum și unui catabolism crescut al Ig la nivelul celulelor tubulare (raport OMS, 1977).

În alte boli de nutriție există un deficit al imunității umorale, cu accentuată predispoziție la infecțiile microbiene în care scăderea de Ig este datorată mai ales unui catabolism crescut. Asemenea scăderi se întîlnesc în distrofiile miopatice și în unele distrofii osoase congenitale.

În stările de malnutriție există un mare risc de predispoziție la infecții prin deficit imun global, celular și umoral. La rîndul lor, infecțiile cronice sau repetate, mai ales virale și parazitare, precum și tuberculoza cronică, pot să accentueze starea de deficit imun secundară malnutriției (Scrimshaw și colab., 1968; Chandra și Newberner, 1977). La necropsie se constată o atrofie a sistemului limfoid și o scădere a corpusculilor Hassal în timus, modificări care reflectă scăderea globală de limfocite și în special de limfocite T (Smith și colab., 1971; Webster, 1977). În malnutriția medie, deficitul imun este rar, pe cînd la copiii și adolescenții cu scădere marcată în greutate, ca în sindromul Kwashiorkor, deficitul este important. Pe lîngă atrofia sistemului limfoid, mai ales în zonele timus-dependente, se observă și un deficit global de ADA. Scăderea populației de T cu deficite funcționale se remite după corectarea malnutriției și se restabilesc testele cutanate de sensibilizare tardivă (Ferguson și colab., 1974; Chandra, 1974).

Ca alterări speciale ale răspunsului imun, pe lîngă scăderea de limfocite T se constată scăderi marcate de IgA secretoare, însoțite de infecții nazofaringiene și respiratorii severe. Pot apărea și creșteri ale IgE, prin infecții parazitare determinate de scăderea celorlalte clase de Ig (Chandra, 1975). Există de asemenea o creștere a populației de limfocite „null" cu efect depresor asupra limfocitelor T blastogene (Chandra, 1977). Cercetările asupra fagocitelor au arătat mai ales o scădere a puterii bactericide prin modificări în metabolismul glucidic și în funcțiile oxidative intracelulare (Seth și Chandra, 1972). Alterările în funcțiile complementului, cu scădere mai ales de C3 prin deficit de sinteză hepatică, accentuează în plus deficitul de apărare (Chandra, 1975).

Alte deficite, scăderile de transferină serică, Fe seric, vitamină B_{12} și acid folic, intervin în apărarea antiinfecțioasă.

În perioada de bătrînețe există importante dereglări imune studiate în ultimul timp sub impulsul lui Burnet, care consideră starea de bătrînețe ca o diminuare a funcției imune generale, concomitent cu o stare autoimună. Ateroscleroza, bolile de nutriție, în special diabetul, tulburările digestive și colelitiaza accentuează starea de deficit imun și predispoziția la boli autoimune la bătrînii supraalimentați. În genere, la bătrîni apare o scădere globală de limfocite T; există mai ales o reducere a centrilor germinativi din ganglionii axilari (Webster, 1977). O dereglare a Ig nu apare evidentă, deși există creșteri de IgG și o tendință la amiloidoză.

F. *Defecte de apărare imună prin deficit al fagocitelor*

Alterările primilor factori celulari de răspuns, macrofagele sau granulocitele, determină sindroame variate care au ca expresie clinică infecții cronice cu diferiți agenți infecțioși, după tipul de deficit. Există deficite de fagocitoză intracelulară și deficite determinate de condiții extracelulare prin alterarea factorilor care favorizează funcțiile de fagocitoză, macrofagie și bactericidie. Defectele intracelulare sînt în marea majoritate congenitale, X-linked sau autosomal recesive, condiționînd sindroame bine conturate la copil. Pot să apară însă și în defectele funcționale ale aparatului fagocitar lizosomal, în special în proliferările maligne din sindroamele mieloproliferative și histiomonocitare. Cercetările arată mai rar tulburări ale sistemului peroxidazic și ale lizosomilor.

În tabelul nr. 13 sînt caracterizate toate deficitele de fagocitoză de origine endocelulară. Cel mai important prin gravitatea sa la copii este sindromul de *granulomatoză cronică*, care apare ca X-linked (Jäger, 1976) la băieți, dar și ca autosomal recesiv în formele severe, raportul băieți/fete rămînînd totuși de 7/1. Defectul constă în scăderea puterii bactericide a granulocitelor și monocitelor. Ambele celule sînt sărace în sistemul enzimatic NADH-oxidază, care condiționează creșterea intracelulară de peroxid și de superoxid de H în perioada de activare pentru bactericidie (v. cap. II, C). Deficitul se poate pune în evidență prin scăderea indicelui bactericid după fagocitarea de b. coli sau stafilococ (Qui și colab., 1967), precum și prin testele de reducere a NBT. Testele arată că fagocitoza este normală însă este grav afectată distrugerea intracelulară activă a bacteriilor.

Clinic, copiii fac infecții repetate grave cu stafilococ, streptococ, b. coli și micoze, cu formare de granuloame musculo-cutanate, mucoase și viscerale care ajung la formarea de noduli abcedanți. Mulți copii prezintă hepato-splenomegalie, anemie secundară, apoi sucombă prin stare septică. La cei cu debut mai tardiv, în formele autosomale, sînt posibile remisiuni și vindecări în a doua decadă a vieții. Gravitatea este dată de importanța tarei ereditare care pare să afecteze variabil masa de fagocite.

În forma descrisă de Ford (citat de Jäger, 1976), sindromul infecțios granulomatos este determinat de o histiocitoză hipocromă, cu splenomegalie, artrită, hipergamaglobulinemie și infiltrate pulmonare.

Este de citat și *sindromul lui Jov*, cu leziuni cutanate eczematoase, permanente, cu abcese stafilococice, tulburări determinate de deficitul chimiotactic, la care se adaugă și creșteri de IgE.

Deficitul de fagocitoză prin *alterarea cooperării cu factorii extracelulari* a fost amintit la celelalte sindroame de deficit imun celular sau anticorpic, ca și la alterările generale de malnutriție.

În sindroamele limfoproliferative cu deficit T, puterea bactericidă poate să scadă prin deficitul de cooperare limfocit T-macrofag (Mackaness, 1969), așa cum au arătat unele cercetări proprii (Berceanu și Gheorghiu, 1973; Berceanu și Ciocoiu, 1976). Puterea bactericidă scade de asemenea în diverse afecțiuni imune cu sau fără deficit granulocitar, ca în disglo-

Tabelul nr. 13

Clasificarea și caracterele deficitelor primare de fagocitoză

(Bull. OMS, Geneva, 1978)

Denumirea	Defectul funcțional	Celulele afectate	Mecanismul defect	Ereditatea	Trăsăturile asociate
Boală cronică granulomatoasă	omorire bacteriană	N,M	producție peroxid și superoxid	legată de cromosomul X	mamele au lupus eritematos cutanat
Boală cronică granulomatoasă	omorire bacteriană	N,M	producție peroxid și superoxid	RA	—
Deficit de mieloperoxidază	omorire bacteriană	N	producție peroxid și superoxid	RA	—
Deficit de G6PD leucocitară	omorire bacteriană	N	producție peroxid și superoxid	?	—
Deficit de piruvat-kinază leucocitară	omorire bacteriană	N	?	?	—
Boala Chediak-Higashi	mobilitate și omorire bacteriană	N,M	?	?	schimbarea pigmentului părului; granule în fagocite
Deficit în legarea actinei	mobilitate	N	legarea actinei	RA	—
Boala Swachman	mobilitate	N	?	RA	disfuncție pancreatică, anomalii osoase
Altele	mobilitate	N	?	?	—
Clearance defectuos	clearance fracțional	M	?	poligenic	—

LEGENDĂ: M=macrofag; N=neutrofil; RA=recesiv autosomal.

bulinemiile anticorpice, inclusiv în cele cu creşteri de IgG din bolile prin CI sau autoimune.

Deficite de fagocitoză şi de putere bactericidă importante apar de asemenea în toate hemocitopeniile splenogene din bolile de sînge, cu sechestrare splenică sau prin defect central de granulopoieză (Berceanu şi colab., 1977).

G. *Sinteză asupra posibilităților și perspectivelor de terapie în deficitele imune*

Gravitatea deosebită a unui sindrom de deficit imun este determinată în special de gravitatea deficitului în sistemul T, ceea ce face ca formele primare de deficit T din sindromul de deficit mixt sever să fie cel mai grav, ducînd la moartea în primul an de viaţă.

În deficitele primare dobîndite, cu hipo- sau disglobulinemie, gravitatea imediată prin infecţii este mai rară, însă evoluţia este grevată de apariţia de boli autoimune şi de cancere.

Redăm după Webster (1977) indicaţiile terapeutice pentru cîteva din tipurile principale de deficit imun :

a) *Hipogamaglobulinemie* (incluzînd şi cîteva cazuri de deficit de IgA) : Gamaglobulină i.m. (gamaglobulină i.v., plasmă proaspătă îngheţată) (*N.B.* Precauţie la transfuziile de sînge şi gamaglobulină în deficitul de IgA total);

b) *Deficit timic izolat:* Transplant de timus (cameră ,,millipore'') sau Thymosin ;

c) *Sindromul Wiscott-Aldrich:* Factor de transfer ; transplant de măduvă osoasă ; gamaglobulină ;

d) *Candidioză muco-cutanată:* Factor de transfer + amphotericină B, corectarea oricărui deficit endocrin sau de Fe ;

e) *Imunodeficit combinat sever:* Transplant de măduvă osoasă (transplant de timus — cameră ,,millipore'' + gamaglobulină) ; Profilactic — sulfadiazină pentru *Pneumokisti carinii;* Transfuzii de sînge iradiat.

Din punct de vedere practic, clinicianul trebuie să ştie că formele cu hipo- şi disgamaglobulinemie sînt compatibile cu o viaţă lungă, prevenindu-se infecţiile şi evoluţia spre boli autoimune prin administrarea regulată de gamaglobulină. Dozele indicate de raportul OMS (1977) sînt de 0,1 g/kg corp/lună sau de 0,025 g/kg corp/săptămînă. Unele intoleranţe (febră, rash, dispnee, hipotermie şi chiar colaps) se pot preveni dacă se evită administrarea de preparate în care s-au produs macroagregate, ceea

ce s-ar realiza prin administrarea de plasmă proaspătă. Aceasta este însă contraindicată din cauza volumului mare și a pericolului de hepatită virală. Preparatele intravenoase au durată de viață mai scurtă și sînt mai puțin eficiente din cauza alterării fragmentului Fc (v. cap. II, E-1). O primejdie deosebită o constituie reacțiile anafilactice grave, chiar mortale, la bolnavii cu hipogamaglobulinemie severă IgA care au anticorpi anti-IgA.

În perioada de infecție și profilactic în perioadele de scăderi grave Ig serice și la bolnavii cu deficit grav în sistemul T se recomandă izolarea în camere sterile și îngrijirea de un personal specializat. Terapia antibiotică va fi aplicată ori de cîte ori e nevoie, folosind antimicrobiene și droguri antifungice (amfotericina B) sau droguri cu acțiune antipneumocistis carini (pentamidină, co-trimoxazol).

Pentru bolnavii cu complicații intestinale, sindrom de malabsorbție, infecții cu *Giardia*, pe lîngă tratamentul specific (metronidazol, mecoprină), tratamentul dietetic cu administrare de proteine, acid folic, vitamină B_{12}, Fe, in genere, aduce ameliorări foarte bune. Transfuziile de sînge, avînd în vedere deficitul de IgA și prezența de anticorpi față de aceasta, se vor face numai în stări severe și numai cu hematii spălate.

În deficitul imun de tip T și în special în forma mixtă severă există acum încercări de *restaurare imună* de tip celular prin diverse metode, fie de grefă de țesuturi bogate în celule T, fie prin factori umorali activi ai acestui sistem. Pînă în 1977 au fost urmărite 35 de cazuri de transplant de măduvă compatibilă la care s-a obținut o reconstituire totală a imunității pentru deficitul imun sever. Cu toate aceste succese există încă o rezervă avînd în vedere gravitatea reacțiilor de grefă contra gazdei (Bertin și colab., 1977). În afară de încercările lui Good de grefă de măduvă osoasă, la copii, transfuziile de hematii iradiate și înghețate pentru aport de enzime ADA și PNP par să corecteze pentru cîtva timp imunitatea celulară, chiar dacă nu se ameliorează cantitativ limfocitele.

Din celelalte metode de reconstituire cu țesuturi, încă discutabile, cităm ca fără rezultate grefa de timus de făt de 10—16 săptămîni, grefa de timus postnatal. S-au obținut totuși rezultate promițătoare de grefă intraperitoneală și intramusculară de celule epiteliale timice cultivate 3 săptămîni *in vitro* (Hong și colab., 1976); metodele de grefă concomitentă de timus și măduvă au dat rezultate în 8 cazuri de ataxie telangiectazică și în 2 cazuri de agamaglobulinemie X-linked. Grefele de ficat fetal, care conțin celule imune cu o competență încă redusă și cu mai puțin risc de reacție a grefei contra gazdei, n-au dat încă rezultate încurajatoare; se folosesc celule hepatice de la făt de 12 săptămîni în cantitate de $4-8 \times 10^8$.

Administrarea de factori activi timici ca extractul de timus, timozină și factor timic umoral au fost folosite în loc de celule T pentru a evita reacția de grefă contra gazdei, însă cu rezultate trecătoare în unele infecții.

Factorul de transfer a dat rezultate în multe cazuri de sindrom Wiscott-Aldrich, dar nu și în sindroamele de deficit imun sever.

Rezultatele obținute sînt controversate, dar, așa cum recomandă Good (1976), sînt necesare încercări noi pentru a găsi o metodă terapeutică de restaurare imună în aceste boli.

VI

Boli prin exces de reacție imună

A. *Boli prin sensibilizare sau boli prin complexe imune*

În clasificarea patogenică a bolilor imunității, grupul de boli prin hipersensibilizare sînt caracterizate prin exces de răspuns imun, ca un revers al bolilor prin deficit de răspuns imun. Excesul de răspuns imun constă dintr-o deviație a răspunsului normal, în sensul că aparatul celular imun rămîne activ și produce în exces Ig anticorpi, care prin reacție cu antigenele generează un exces de CI cu calități patologice. În special după 1970 apare frecvent termenul de „boli prin complexe imune", întrucît leziunile produse în aceste stări sînt rezultatul precipitării CI. Începînd cu Germuth (1954, 1957), metodele de separare a CI în circulație (Woodruff și Wilson, 1977) au adus dovezi care atestă rolul predominant în producerea leziunilor imune acute și cronice al complexelor antigen — anticorp, în genere cu fixare de complement. Leziunile prin CI au fost reproduse și experimental, în două modalități clasice, fenomenul Arthus și boala serului experimentală. Dealtfel, Von Pirquet (1907) a intuit că, la om, reacțiile anafilactice din boala serului se produc prin reacția antigen — anticorp. A trebuit să treacă însă aproape 50 de ani ca, abia după 1955, lucrările asupra leziunilor prin CI să fie reluate sub diferite aspecte imunopatologice. De remarcat însă că cele mai multe lucrări se referă la mecanismul formării precipitatelor și al depunerii în țesuturi și mai puțin asupra mecanismului de generare a CI patologice ca deviație imună cu răspuns de hipersensibilitate și hiperimunizare.

În lucrări anterioare (Berceanu și colab., 1967, 1968, 1971, 1975, 1978) am pus în discuție relația dintre deficitul imun și stările de hipersensibilizare, acestea fiind o consecință a autoîntreținerii răspunsului imun la antigene care nu sînt eliminate din cauza unui răspuns imun deficitar. Generarea de CI este o consecință a persistenței în organism a antigenelor și stimulării continue a aparatului celular imun capabil să genereze anticorpi, dar inapt să curețe organismul atît de antigene, cît și de CI antigen — anticorp.

Starea de boală constă dintr-o proliferare permanentă a sistemului celular imun în ganglioni, splină și măduva osoasă, însoțită de hipersecreție de Ig cu persistența în circulație a CI, uneori cu scădere de complement. Depunerea CI în anumite țesuturi capilare, glomeruli, sinoviala articulară și alte seroase determină o aglutinare și o agregare a plachetelor, o acumulare de leucocite, cu consecințe toxice lezionale pentru țesuturile în care s-au depus. În funcție de natura antigenelor, dar și de capacitatea de răspuns imun cu un deficit probabil genetic, leziunile prin CI pot să evolueze acut și să se vindece (cazul glomerulonefritei acută difuză),

sau pot să se cronicizeze și să dureze toată viața (unele nefropatii și vasculopatii prin CI, mai ales cu crioglobuline). Este foarte probabil ca în această evoluție cronică, cu stare de hiperreactivitate imună față de un antigen nonself, să se producă dereglări imune mai profunde, care să condiționeze reacții imune cu autoanticorpi. Autoîntreținerea se continuă prin generarea de CI cu autoantigene și boala ia caracter de boală autoimună.

Pentru înțelegerea leziunilor și bolilor prin CI, așa cum sînt discutate în prezent, trebuie analizate următoarele aspecte : condițiile de formare a CI în circulație, în funcție de cantitățile de antigen și anticorp ; condițiile de precipitare a lor pentru a forma macroagregate și a se depune în țesuturi ; activarea funcțiilor biologice umorale și celulare care determinate prin leziuni CI (complement, plachete, factori de coagulare, endotelii capilare, granulocite neutrofile) ; modalitățile și mecanismul evoluției leziunilor prin CI ; metodele actuale de determinare a CI circulante și a celor precipitate în țesuturi ; boala prin CI cu alterare a răspunsului imun normal și relația cu stările de deficit imun și stările de autoimunizare.

1) **Formarea și precipitarea CI** sînt două fenomene legate între ele și determinate de relația cantitativă a antigenelor și anticorpilor în cadrul unui răspuns imun. Întrucît formarea de CI este un fenomen fiziologic normal, care apare în orice răspuns imun eficient, precipitarea și depunerea lor în țesuturi constituie o secvență de reacții care devin patologice numai în condiții speciale de răspuns imun ; acestea fac să se unească complexele în macroagregate ce vor precipita determinînd leziunile din țesuturi. Trebuie ținut seamă că și în patologia CI, ca și în alte fenomene patologice, există zone de trecere cantitative și calitative între normal și patologic. Toți cercetătorii admit că în mod normal și mai ales la bătrîni există CI circulante și unele depuneri în țesuturi fără să se producă leziuni și fără o stare de boală prin CI.

Metodele actuale de determinări cantitative ale CI în circulație (Agnelo și colab., 1973 ; Williams și colab., 1975 ; Zubler și colab., 1976) au completat lucrările inițiale ale lui Dixon și Cochrane și ale lui Germuth asupra producerii leziunilor în urma precipitării și depunerii CI în țesuturi din boala serului. În desfășurarea răspunsului imun există o primă perioadă de exces de antigene care scade prin mai multe mecanisme neimune pînă în zilele 7—8, cînd se produce o scădere liniară prin formarea de anticorpi și legarea lor ca CI. Marcarea cu ^{131}I a antigenelor și complexelor arată că există o perioadă de exces de antigene cînd complexele formează agregate mai mici și nu precipită. Există apoi o perioadă de exces moderat de antigene, cînd se formează CI cu macroagregate de peste 19S și cînd există condiții fizice de precipitare și captare a lor în țesuturi. Urmează apoi o fază cu formare de complexe în exces de anticorpi circulanți cînd din nou complexele sînt mai mici și precipită mai puțin. În ultima fază, după 14—15 zile, cînd nu mai există antigene, se formează numai anticorpi și CI dispar din circulație și destul de repede și din țesuturi. Leziunile se produc în rinichi, vasele din piele și cord, în articulații și creier, așa cum au arătat cercetările morfologice (Germuth) și cele prin imunfluorescență (Dixon și colab., 1965—1970) ; se dezvoltă apoi în perioada formării CI prin exces moderat de antigene, adică în zilele 8—12.

Folosirea altor metode precizează că eliminarea fiziologică sau precipitarea complexelor imune depinde de legarea lor într-o rețea de agregare. După cantitatea de antigene din circulație în raport cu concentrația de anticorpi se formează rețele rapid recunoscute de receptorii macrofagelor și polinuclearelor, care astfel le vor curăța din circulație.

În relația antigen — anticorp joacă un rol și structura specială a antigenelor, dar mai ales structura și afinitatea anticorpilor. Astfel, anticorpii de tip IgG formează mai ales complexe solubile, care vor fi repede eliminate din circulație prin captarea lor de către celulele Kupffer (Arend și Manik, 1972, 1973). Separarea antigenelor, anticorpilor și complexelor prin ultracentrifugare în gradient de sucroză a precizat raporturile cantitative și tipul de anticorpi după clasele de Ig, după capacitatea de a lega complementul, care formează o rețea cu solubilitate sau afinitate particulară pentru receptorii macrofagelor.

La greutatea moleculară peste 19S (IgM) se formează rețele precipitabile. La formarea rețelelor solubile, cu IgG, joacă rol și activitatea anticorpilor pentru antigenele respective. La o afinitate redusă, complexele au calități fizice defectuoase, astfel că rămîn mult timp în circulație, capacitatea de clearance a SRE fiind redusă pentru acestea. Întrucît macrofagele au receptori bogați pentru C3, legarea acestuia în anumite complexe va favoriza pinocitarea lor și eliminarea din circulație, împiedicînd depunerea.

Un factor important de eliminare rapidă a CI din circulație este starea funcțională a macrofagelor. În răspunsul imun, macrofagele devin activate (v. cap. II, C) și astfel procesul de captare și degradare a CI este foarte activ. Alterarea macrofagelor sau blocarea lor experimentală (particule de carbon) ori patologică (infecții parazitare) scad capacitatea funcțională a sistemului macrofagic. Bolile genetice sau dobîndite ale sistemului macrofagic scad de asemenea capacitatea lor de clearance și favorizează persistența în circulație a macroagregatelor. În patologia umană (boala serului) s-a arătat că există un moment de saturație cu antigene a macrofagelor care face dificilă captarea complexelor formate (Weigle, 1974).

2) **Precipitarea CI, captarea și sechestrarea lor în vase** este procesul care determină producerea de leziuni imune caracteristice bolilor prin CI. Deși cercetările sînt mai mult experimentale, se admite că leziunile morfologice și imunochimice din patologia umană sînt asemănătoare. La pătrunderea din circulație în peretele vascular a macroagregatelor de CI se pare că contribuie activitatea endoteliilor. Inițial se produce o permeabilizare crescută a celulelor endoteliale și a membranelor bazale, astfel că este posibilă efracția complexelor, depunîndu-se mai ales între membrana bazală și endotelii. Permeabilizarea este condiționată de eliberarea de amine vasoactive în primele faze ale reacției antigen — anticorp. Rolul plachetelor sanguine este foarte important, în sensul că CI eliberează un factor de agregare a plachetelor. Există de asemenea eliberări de amine vasoactive chiar de către celulele endoteliale sub influența iritantă a CI. depuse pe pereții vasului (Mc Cluski, 1960). Plachetele se aglutinează în special prin acțiunea complementului legat în CI, eliberîndu-se și pe această cale histamina și serotonina (Waalker și Cochrane, 1959; Miescher

și colab., 1960; Harrison și Cochrane, 1969), care permeabilizează în plus peretele, iar CI pătrund sub endotelii, așezîndu-se liniar sau în granule pe membrana bazală, devenind vizibile la microscopul electronic și prin imunfluorescență. Dacă reacția se oprește aici, în glomeruli, în locul depunerii apar leziunile de glomerulită membranoasă care determină sindromul nefrotic și leziunile de ,,wire loop'' considerate caracteristice în LED.

În acțiunea de permeabilizare joacă un rol important bazofilele și mastocitele din jurul pereților vasculari. Se explică astfel rolul bazofilelor din răspunsul imun patologic și relația cu anticorpii IgE. În răspunsul imun o anumită cantitate de IgE se leagă de suprafața bazofilelor cu receptori specifici pentru această Ig. Activarea bazofilelor condiționează fenomenul de ,,degranulare'' a lor, cu eliberare de amine vasoactive și de factori de agregare plachetară. Eliberarea în plus a aminelor din plachete, pe lîngă cea din endotelii și din bazofile, determină o mare alterare a permeabilității și asigură pătrunderea complexelor macroagregate în perete (Benveniste și colab., 1972).

Se pare însă că acțiunea complementului nu este totdeauna necesară pentru acest lanț de reacții, întrucît există depuneri de macroagregate imune cu leziuni glomerulare și în stările de depleție a complementului (Cochrane și Dixon, 1976). Poate că deficitul de complement cu activarea lui C3 ar avea un rol pentru activarea macrofagelor și pe această cale ar facilita captarea complexelor și ar împiedica depunerea lor (Oldstone și colab., 1974). De asemenea, complementul ar menține faza solubilă a complexelor favorizînd astfel clearance-ul lor (Miller și Nussenzweig, 1975).

3) **Evoluția leziunilor prin CI** este determinată de rolul granulocitelor neutrofile și de activarea factorului de coagulare.

Procesele rezultate din stagnarea complexelor la nivelul pereților vasculari și din activarea complementului sînt diapedeza și acumularea granulocitelor neutrofile, realizîndu-se structura de fenomen Arthus. Captarea CI și a complementului (C5) duce la activarea reacțiilor citoplasmice și de membrană. Prin endocitoză, complexele și antigenele pătrund în citoplasmă, determină formarea de fagosomi bogați în hidrolaze acide, care sînt eliberate prin ,,exocitoză'' și dau citoliza granulocitelor (Pope și colab., 1974). Granulocitele neutrofile devin astfel, din celule de apărare, factori de agresiune care stau la baza patologiei imune inflamatorii și degenerative din majoritatea leziunilor de autoîntreținere hiperimune și autoimune. Cochrane și Dixon citează bolile din patologia umană în care leziunile, cel puțin la început, sînt determinate de acțiunea hidrolazelor granulocitare; glomerulonefrita, bolile reumatismale acute și cronice, boala Schönlein, periarterita nodoasă, alte vasculite necrotizante, inclusiv cele prin crioglobuline.

Realizarea experimentală a fenomenului Arthus, a vasculitelor și glomerulitelor în condiții de agranulocitoză determină leziuni exsudative cu edem și modificări de membrană bazală fără leziuni de tip inflamator și fără distrugerea pereților vasculari și glomerulari.

Cantitativ, eliberarea enzimelor lizosomale este strict dependentă de numărul de granulocite (Cochrane, 1971). S-au identificat proteaze acide cu acțiune pe structurile colagene, în special pe membranele bazale,

dar şi proteaze neutre, active asupra complexelor proteino-polizaharidice din cartilaj, cu rol în leziunile articulare prin CI (Ziff şi colab., 1960; Weissman şi Spilberg, 1968).

O altă protează, alfa-colagenaza, degradează membranele bazale vasculare şi structurile colagene din ţesuturile articulare (Lazarus şi colab., 1968). De asemenea, a fost descrisă o elastază care degradează elastina din membranele bazale şi favorizează pătrunderea de CI şi granulocite în tunica medie a vaselor, determinînd leziuni de panarterită caracteristice (Cochrane, 1971).

După Cochrane şi Dixon, alterarea neutrofilelor eliberează şi unii factori activi pe kininogenul plasmatic, rezultînd scăderi de kinine, cu rol posibil în leziunile prin CI şi în activarea factorului Hageman.

O reacţie de clivare ca C1 şi C5 prin factorii din polinucleare duce la eliberarea de factori permeabilizanţi cu eliberare de SRA-S („slow reacting anaphylaxis substance") foarte importantă în reacţiile anafilactice prin CI (Ward şi Hili, 1970; Taubman şi Lepow, 1971). S-au izolat 3 proteine cationice cu acţiune degranulantă pentru bazofile şi de creştere a permeabilităţii.

În procesul de activare al coagulării care însoţeşte leziunile mai avansate prin CI, polimorfonuclearele eliberează o tromblastină asemănătoare cu factorul 3 plachetar, activator al factorului XII şi al cascadei coagulării care va genera formarea de fibrină, proces bine studiat mai ales în CID din fenomenul Sanarelli-Schwarzman.

Acumularea de neutrofile şi eliberarea de mediatori ai inflamaţiei determină, într-o primă fază, leziuni inflamatorii şi distructive, cu rupere de pereţi vasculari, formarea de focare inflamatorii sau inflamaţie difuză, ca în glomeruli. După structura organului lezat se realizează procese degenerative şi inflamatorii variate. Dacă procesul imun continuă, leziunile se autoîntreţin şi se ajunge la procese degenerative şi de scleroză ireversibilă. Coagularea declanşată, cu depunere de fibrină şi formare de coaguli intravasculari sau colagenici, ca în articulaţii şi în endomiocard, va continua, rezultînd trombuşi vasculari şi leziuni ischemice, care de asemenea accentuează procesele degenerative cu hialinizare şi scleroză.

Sînt încă discutate leziunile prin sistemul de *prostaglandine* care intervin în fenomenele de aderenţă a plachetelor, precum şi rolul microtubilor din granulocite în procesul de aderenţă a granulelor intracitoplasmice pe membranele tisulare (Henson şi Cochrane, 1969; Weissman şi colab., 1971, 1972).

Recent, Cochrane şi Dixon (1976) rediscută rolul claselor de Ig şi al acumulării de granulocite în eliberarea de enzime prin complexele imune. Factorii anafilatoxinici (C3a şi C5a) degranulează mastocitele şi au acţiune chimiotactică pentru eozinofile şi neutrofile, care agregă şi aderă de pereţii vaselor. Fenomenul de imunoaderenţă pare determinat de CI prin reacţia C3 şi IgG (Ward şi colab., 1965, 1968, 1969). Degranularea depinde şi de clasa de Ig, IgG şi IgA fiind foarte active, pe cînd IgM, IgD şi IgE par să fie inactive (Henson, 1971).

4) **Metodele de decelare a CI** în circulaţie şi în leziune sînt foarte importante pentru diagnostic. În practica clinică au pătruns mai ales metodele de imunofluorescenţă şi microscopie electronică, aplicate la mate-

rialul bioptic după puncție renală și articulară. Aceste metode pun în evidență Ig precipitate, fracțiunile de complement, fibrina și numai indirect antigenele care au determinat boala prin complexe. Mai frecvent se pot decela autoantigenele din LED, PCE și sindromul nefrotic.

Din cauza dificultăților tehnice, metodele de determinare a CI în circulație se folosesc numai în unități bine utilate. Mannik și colab. (1974) fac o analiză a metodelor actuale și disting metode fizico-chimice și metode imunologice; Hall și colab. (1979) completează datele tehnice, precizînd valoarea fiecărei metode.

Dintre metodele fizice, ultracentrifugarea pune în evidență complexe cu moleculă mică, tip 9S, formate în exces de antigen, complexe tip 9S—11S, care se produc la concentrații slabe sau moderate de antigene, și complexe de tip 30S, care apar la concentrații mari de anticorpi.

În metodele biologice de legare pe crioglobuline se folosesc complexe de tip II și III IgG-anti-IgG care au valențe libere pentru legarea CI din ser.

În tehnica cu C5a fragmentele Fc ale Ig din complexe se leagă de fracțiunea de complement la cald și apoi se pun în evidență prin difuziune în gel (Agnello, 1976). În altă metodă, C1q marcat cu ^{125}I leagă complexele din ser care apoi se determină cantitativ prin metoda RIA.

În metoda zisă de „deviație a C1q" se folosesc hematii de oaie sau bile de agaroză învelite cu IgG; după sensibilizare cu ser de bolnav se pun în evidență cantități mici de complexe (5 μg/ml), pe cînd prin metoda RIA concentrații mai mari (15 μg/ml) (Zubler și colab., 1976). Metodele cu complement nu detectează însă acele complexe care nu leagă complementul, iar sensibilitatea este numai pentru macroagregatele de 19—45S.

O metodă asemănătoare cu cea prin crioglobuline este *metoda cu factor reumatoid* care poate detecta pînă la 0,5 μg/ml complexe imune.

Dintre metodele de punere în evidență a CI pe țesuturi sînt cunoscute metodele de imunfluorescență cu seruri anti-Ig marcate, anti-complement și anti-lanțuri kappa sau lambda. Tehnica nu permite evidențierea genelor exogene; în plus, unele antigene din complexe sînt blocate de anticorpi astfel că trebuie demascate prin eluarea acestora și apoi disociate. Pentru a se preciza dacă aceste complexe eluate sînt cele care determină boala sînt necesare identificări comparative cu CI din circulație. S-a observat că unele antigene local „sechestrate" pot fi lipsite de rol patogenic, așa cum sînt antigenele HBs. Există de asemenea complexe cu IgM și C3, depozitate în mezangium, care nu sînt patogene, nedeterminînd alte leziuni locale. În leziunile peretelui arterial, în hipertensiunea malignă, în PAN și sclerodermie se pot găsi complexe sau antigene străine care nu au o legătură cu leziunile existente.

Există însă și posibilitatea inversă: în leziuni sigur prin CI (ca în boala serului acută sau în fenomenul Arthus experimental), CI să fie degradate și să nu mai fie decelabile, local găsindu-se numai C3 fără Ig și nici antigene (Mc. Clusky, 1971; Cream, 1972). Rezultă că metodele de depistare a complexelor în leziune au o valoare încă incertă pentru diagnostic, indiferent dacă în leziune se identifică sau nu componente ale CI.

5) **Natura bolilor prin CI și relația cu stările de deficit imun.** Pe baza observațiilor clinice și ținînd seama de infecțiile variate și continue care se produc în unele deficite imune de gravitate medie ca în diversele

disgamaglobulinemii şi hipogamaglobulinemii, relevate în lucrări anterioare (Berceanu, 1965, 1968, 1971, 1972, 1975, 1977, 1978), se poate admite că răspunsul imun anticorpic în aceste condiţii este neeficient în funcţia de eliminare a antigenelor şi a CI.

Ipoteza noastră, ilustrată în lucrarea din 1968, este pe deplin confirmată de J.F. Soothill, în raportul ţinut la al IV-lea Congres Internaţional de imunologie (Brighton, 1974), prin afirmaţia că „sistemul lezat este cronic suprastimulat ca un rezultat al supraexpunerii la antigene pentru că mecanismele răspunzătoare pentru excluzia sau eliminarea antigenelor sînt defective". La această afirmaţie, foarte semnificativă, bazată pe lucrări personale, se adaugă încă altele prin observaţii clinice şi experimentale (Biozzi şi colab., 1971; Agnello şi colab., 1972). În ipoteza noastră, deficitul de eliminare a antigenelor şi CI constă dintr-o alterare a activităţii macrofagelor, care poate fi o dereglare intrinsecă sau o dereglare a cooperării dintre limfocitul T şi macrofag sau limfocit B. Această activare incompletă a macrofagelor condiţionează persistenţa în organism a antigenelor şi astfel, prin hiperstimulare continuă, rezultă hipergamaglobulinemie şi CI în circulaţie. Confirmarea lui Soothill argumentează în favoarea denumirii dată de noi pentru bolile prin CI ca „boli de suprarăspuns imun" sau „boli de hipersensibilizare şi hiperimunizare" (Berceanu, 1968).

Deficitul de clearance al antigenelor prin macrofage se poate explica însă şi prin generarea de anticorpi cu afinitate scăzută pentru antigene, formîndu-se CI cu lactice defectuoasă care precipită (fig. 27).

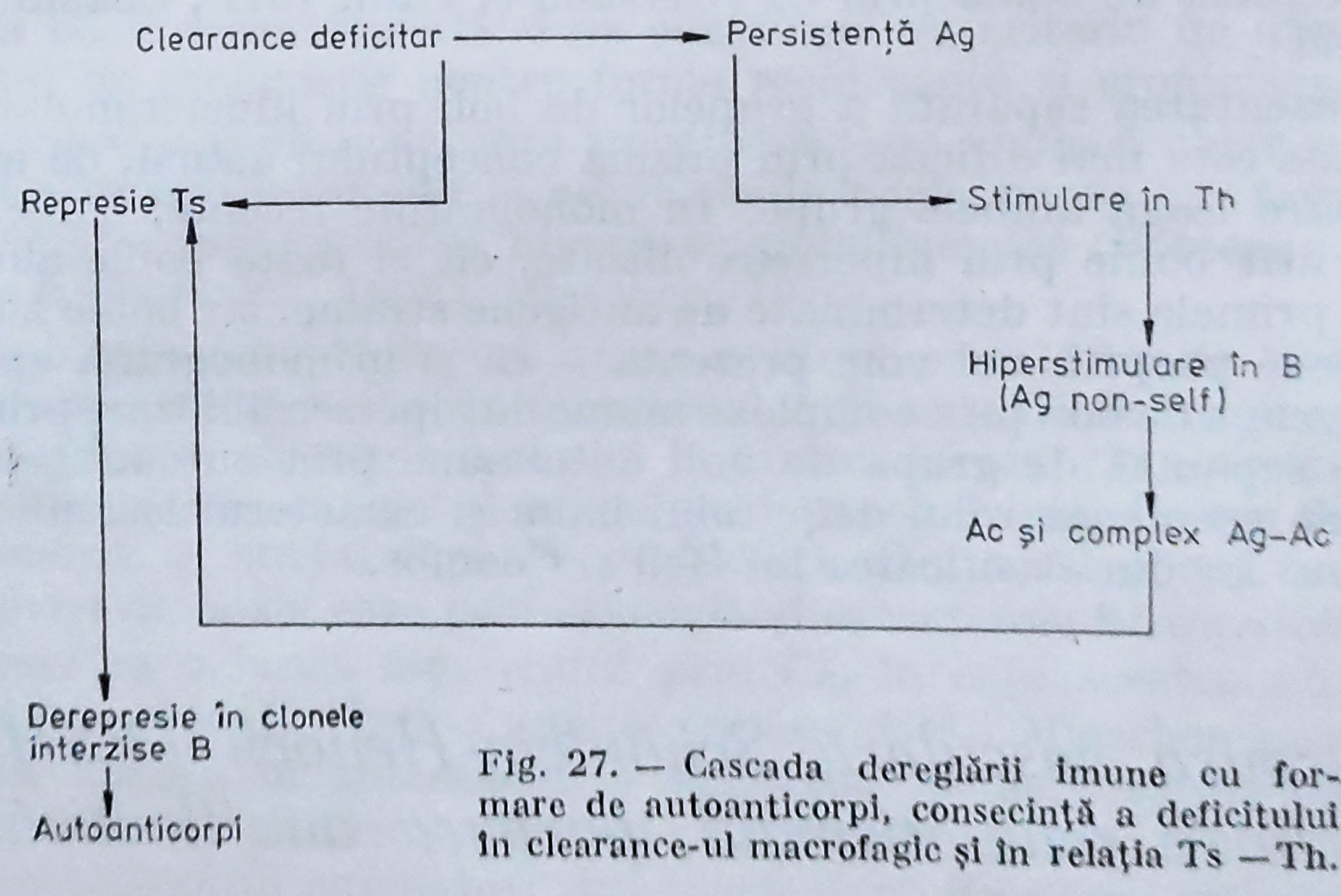


Fig. 27. — Cascada dereglării imune cu formare de autoanticorpi, consecinţă a deficitului în clearance-ul macrofagic şi în relaţia Ts — Th.

Cercetări experimentale mai vechi (Oldstone şi Dixon, 1971), pe linii de şoareci diferite, arată că răspunsul la diferite antigene are eficienţă diferită de la o linie de şoareci la alta. Există sigur un anumit defect de reglare în zona Ir a MHC, care alterează răspunsul imun în diferitele sale ramuri conexiale. Astfel poate fi dereglat fie sistemul T activator de macrofage, fie sistemul B pentru anumite antigene. De asemenea, prin predo-

minanţa sistemului Ts pentru anumite clase de Ig sau a sistemului Th pentru altele poate apărea un răspuns imun dezordonat cu o anumită clasă de Ig în exces şi cu scăderea altora, condiţionînd o disgamaglobulinemie în care cooperarea claselor de anticorpi nu este eficientă pentru a lega antigenele în CI eliminabile. Menţinerea în stare activă de hiperstimulare a sistemului imun produce, într-o primă fază de boală cu self-perpetuare, leziuni prin CI pe un fond de infecţii cronice repetate. Într-o a doua fază, ca în unele nefropatii şi vasculopatii, hiperstimularea nu mai este întreţinută prin antigene exogene microbiene sau virale, ci prin antigene proprii, self-perpetuarea luînd caracter de boală autoimună. Cooperarea Ts — Th fiind dereglată, sistemul Ts care suprimă răspunsul celulelor B pentru autoantigene cedează în favoarea sistemului Th, rezultînd un răspuns cu autoanticorpi. Deşi nu în toate bolile autoimune se poate dovedi acest mecanism, prezenţa de autoantigene în anumite boli autoimune (LED, PCE, vasculopatii cu crioglobuline etc.) sînt argumente pentru ruperea toleranţei faţă de self după o hiperstimulare faţă de nonself.

Uneori, deficitul imun care întreţine formarea în exces de CI neadecvate şi de autoanticorpi cu afinitate scăzută poate să fie tardiv, ca în afecţiunile respiratorii cu deficit de IgA sau în alte afecţiuni cauzate de alterări ale sistemului para-HLA. Panencefalita sclerogenă după infecţie rujeolică, cu producere de anticorpi faţă de virusul rujeolic persistenţi în sistemul nervos central, se explică prin dereglarea sistemului T care coordonează producerea de anticorpi cu afinitate slabă. În alte deficite imune de tip T combinate cu hipogamaglobulinemie IgA apar, de asemenea faţă de anumite antigene, răspunsuri imune cu anticorpi de afinitate scăzută care sînt sursă de boală prin CI (Gershon şi Paul, 1971 ; Chandra şi Soothill, 1971).

Prezentarea separată a grupelor de boli prin hiperstimulare şi boli autoimune este mai dificilă prin prisma conceptului actual, de mecanism unitar care leagă ambele grupe. În monografiile recente, bolile prin CI cuprind atît bolile prin hipersensibilizare, cît şi toate bolile autoimune. Întrucît primele sînt determinate de antigene străine, iar bolile autoimune de antigene proprii, noi vom prezenta — ca şi în monografia apărută în 1975 — grupa de boli prin complexe imune de hipersensibilizare prin heteroantigene separată de grupa de boli autoimune prin autoantigene. Vom preciza de asemenea rolul deficitului imun şi caracterul leziunilor imune după tipul lor din clasificarea lui Gell şi Coombs.

B. *Purpura vasculară Schönlein-Henoch (PSH) (pelioza reumatismală, purpura anafilactică sau alergică)*

Prin leziuni ale vaselor mici, PSH apare ca boală tipică prin CI, asemănătoare întru totul ca mecanism histopatogenic fenomenului Arthus experimental.

Considerată ca vasculită reumatismală de către Schönlein, în 1873, şi completată cu descrierea simptomelor abdominale de către Henoch,

în 1874, a fost considerată mai tîrziu de către Glanzmann ca boală anafilactică.

Avînd în vedere condiţiile de apariţie, poate fi încă considerată ca o boală hiperergică poststreptococică. Apare mai ales la copiii sub 7 ani (75% din cazuri), la 7—15 zile după o infecţie a căilor respiratorii superioare sau după amigdalo-faringită. Taylor şi colab. (1976) găsesc prezentă infecţia cu streptococ beta-hemolitic grup A la 90% din cazuri.

Simptomatologia reproduce întru totul tabloul de boală alergo-anafilactică asemănătoare bolii serului: purpură cutanată de tip papulos sau macular, uneori însoţită de reacţii urticariene sau urticarie hemoragică. La 80% din cazuri apar şi manifestări de poliartrită inflamatorie şi de multe ori simptome abdominale cu crampe, colici, diaree frecvent hemoragică. La 30—60% din cazuri atingerea renală este prezentă, mai ales ca o glomerulonefrită acută în focar, cu hematurie, cilindrurie şi uşoară proteinurie. Glomerulonefrita acută difuză cu fenomene de insuficienţă renală apare numai la 10% din cazuri, în genere după recidive cu tendinţă la cronicizare. Pot exista şi alte manifestări congestive inflamatorii sistematice ca pneumonia, miocardita, iridoconjunctivita, însă foarte rar.

Examenele de laborator arată modificări apropiate de boala reumatismală poststreptococică, însă mai atenuate şi mai fruste. La copiii bolnavi se depistează streptococul în gît şi căile respiratorii; anticorpii specifici ASLO şi anti-DNază sînt însă mai rari şi de scurtă durată: după Bywaters şi colab. (1958) apar în 30% din cazurile cu streptococ beta-hemolitic A. Creşterea moderată a VSH, leucocitozei, alfa$_2$-globulinei, gamaglobulinei şi proteinei C reactivă sînt mai puţin caracteristice comparativ cu boala reumatismală şi nu constituie un criteriu de diagnostic, ci mai mult de prognostic pentru forme recidivante şi cronicizante.

În genere la copii boala este trecătoare şi se vindecă chiar spontan. Recidivele sînt mai obişnuite la adult, unde boala poate lua formă cronică cu evoluţie spre vasculite hipergamaglobulinemice (Berceanu, 1965; Bruckner şi Berceanu, 1972; Miescher, 1976).

Caracterul de boală imună apare evident prin leziunile histologice cu totul asemănătoare celor din fenomenul Arthus şi boala serului. Analizele imunochimice, efectuate mai ales în ultimii 15 ani, nu au putut pune însă în evidenţă nici antigenul microbian sau viral, nici Ig sau fracţiuni de complement, ci numai depozite de fibrină. Din acest punct de vedere este un model de boală care prin etiologia şi caracterele histopatologice şi clinice apare ca o boală hiperergică prin CI, în care acestea nu se pot pune însă în evidenţă. Într-o analiză amănunţită, Miescher susţine că, deşi există infecţii în antecedentele imediate, inclusiv tuberculoza sau stafilococii, nu s-ar confirma natura de boală prin CI, care nu se găsesc în leziune, iar anticorpii circulatori sînt foarte rari. Se pare însă că aceştia nu s-au căutat în perioada iniţială de boală, după cum nu s-au căutat nici CI. Testele IDR sînt pozitive cu antigene microbiene variate (PPD, filtrate streptococice sau stafilococice); însă reacţiile sînt tardive şi numai rareori imediate, aşa cum ar trebui să fie într-o boală prin CI (Miescher şi Müller-Eberhard, 1976). Stark (1955), prin IDR cu filtrate microbiene, obţine însă leziuni cu caracter de fenomen Arthus.

Cu toate argumentele contrarii ale lui Miescher, boala Schönlein-Henoch trebuie considerată mai departe ca boală prin CI, care ar putea fi pusă în evidență prin metodele actuale. Dealtfel, lucrări recente (Jägers, 1976) o încadrează printre bolile hiperergice, în unele leziuni găsindu-se Ig și complement (Allen și Reeves, 1977). Foarte recent, Zubler (1979), într-o punere la punct asupra vasculitelor inflamatorii, încadrează PSH printre vasculitele hiperergice alături de boala serului.

Cu excepția cazurilor care se vindecă, în special la copii, evoluția pledează pentru caracterul de boală imună al PSH. Infecții repetate sau alergizări de altă natură, alimentare sau medicamentoase, precum și unele infecții fungice (Sussman și colab., 1973) reactualizează boala prin recidive și apoi prin cronicizare cu pusee acute repetate. Tegumentele membrelor inferioare apar înnegrite, violacee, uneori cu ulcerații necrotice, ca semne ale repetatelor reacții inflamatorii ale vaselor, cu extravazări sanguine și tromboze. Cu timpul se accentuează manifestările intestinale, apoi se instalează leziunile glomerulare cu caracter de glomerulonefrită cronică, cu hematurie, albuminurie și hipertensiune arterială. La cei mai mulți bolnavi cronicizați cresc Ig policlonale, în unele cazuri punîndu-se în evidență sindroame de disgamaglobulinemie. Este faza de *purpură disgamaglobulinemică*, descrisă inițial de Waldenström (1952), la care se găsesc frecvent crioglobulinemii și scăderi de complement. Devine evident că în aceste cazuri boala de CI cu antigene exogene s-a transformat în boală autoimună cu autoantigene și autoanticorpi de tip factor reumatoid, mai rar cu prezența de factor nuclear și aglutinine la rece.

În măduva osoasă, în ganglionii limfatici și chiar în ficat apar infiltrate limfoplasmocitare foarte bogate, ca semn al selfperpetuării imune în condiții de deficit imun care determină predispoziția la infecții repetate și la boala autoimună (Berceanu și colab., 1965, 1972, 1973; Bruckner și Berceanu, 1969). Infiltrația limfoplasmocitară poate să devină malignă, mielom sau limfom, iar hipergamaglobulinemia policlonală să devină monoclonală.

Principiile de tratament sînt indicate de natura bolii. Avînd în vedere caracterul trecător, la copii și tineri nu este necesar un tratament special pentru purpură. Dacă sînt semne de infecție microbiană se va trata aceasta, mai ales pentru profilaxia recidivelor. În cazuri cu etiologie medicamentoasă, se vor înlătura drogurile incriminate și se va interzice folosirea lor (penicilină, sulfamide, chinină și chinidină, antibioticele în general, droguri psiholeptice etc.). Se vor căuta de asemenea alergizările la anumite medicamente (citrice, șocolată, icre, crustacee etc.) evitîndu-se acestea. Se vor depista de asemenea și se vor trata infecțiile cronice cu fungi.

Formele grave cu atingere viscerală de la început (digestive, renale, articulare, cardiace) necesită tratament mai prelungit cu cortizon. În formele cronice recidivante, efectul cortizonului este nesigur sau poate dăunător, favorizînd infecțiile și prin ele purpura. În visceralizările cu hipergamaglobulinemie se vor încerca imunosupresoarele, ca imuranul și endoxanul, și poate mai bine antimalaricele de sinteză. Miescher, care admite un mecanism de hipersensibilizare tardivă, recomandă imunodepresive cu acțiune pe limfocitele T. Se recomandă de asemenea desensibilizări cu vaccinuri microbiene.

C. Cardita reumatismală poststreptococică

Boala acută reumatismală se datorește unui răspuns imun neadecvat față de o infecție cu streptococ hemolitic grup A, care posedă antigene crossreactante cu antigenele structurilor miocardice. Răspunsul imun neadecvat ar putea fi genetic și ar consta din incapacitatea de eliminare a infecției streptococice din anumite focare, care, persistînd, întrețin un răspuns imun complex, umoral și celular ce determină leziunile miocardice indelebile, precum și pe cele articulare.

Cardita reumatismală interpretată în lumina cunoștințelor actuale de imunologie apare deci ca o boală imunologică mixtă, prin acțiunea citotoxică a anticorpilor antistreptococici, a anticorpilor față de structurile antigenice miocardice crossreactante cu structurile antigenice streptococice, precum și a acțiunii discutabilă a CI intricate cu acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate. Toate cercetările acumulate în ultimii 25—30 de ani trebuie legate și interpretate astfel ca toți factorii patogenici coroborați să explice caracterul de boală imună sau autoimună a febrei reumatismale.

De la început trebuie precizat că în producerea leziunilor din cardita reumatismală inițial joacă un rol sigur toxinele microbiene endogene, dar mai ales exogene, care, eliberate în circulație, determină leziuni în toate structurile cordului, în special în miocard și în endoteliul valvular. Acțiunea toxică a acestor produse microbiene lezează structurile fibrelor miocardice și unele structuri mucopolizaharidice din valve și demască astfel anumite antigene proprii de organ, care intră în veriga patogenică a evoluției leziunilor din cardita reumatismală. Organismul gazdă infectat cu un tip de streptococ beta-hemolitic A se găsește sub influența imunogenă stimulatoare a antigenelor streptococice și a antigenelor proprii cardiace. Față de aceste antigene crossreactante apar atît anticorpi antistreptococici, cît și anticorpi față de structurile miocardice.

Acțiunea ambelor tipuri de anticorpi, într-o primă fază, accentuează leziunile inițiale produse de acțiunea produselor toxice streptococice. Cum răspunsul imun nu asigură eliminarea sursei de antigen, reacțiile umorale imune continuă cu efectul lor prin autoanticorpii antistructură miocardică, la care se adaugă și reacțiile de imunitate celulară prin limfocite T sensibilizate cu efect citotoxic și citofibrilar pentru structurile tisulare.

Efectele lezionale prin mecanismul umoral anticorpic sînt mai ales de tip exsudativ și nefrotic, ca leziuni de tip II prin anticorpi și de tip III prin CI. Aceste tipuri de leziuni sînt caracteristice în endocardul parietal și valvular, în articulații și uneori în piele, seroase, rinichi, creier etc. Acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate accentuează leziunile pe fibrele miocardice, dar mai ales determină leziunile granulomatoase endomiocardice, sub forma nodulilor Ashoff, caracteristici carditei reumatismale. Intradermoreacțiile efectuate cu produse antigenice streptococice, ca și unele teste *in vitro* de sensibilizare celulară dovedesc existența unei a doua componente patogenice, sensibilizarea de tip tardiv, care se intrică cu cea umorală. Rolul combinației acestor factori complecși în mecanismele

imunopatogenice din cardita reumatismală, cu leziuni toxice microbiene și cu leziuni imune (tipurile II, III și IV), trebuie reliefat printr-o scurtă analiză a fiecăruia dintre componentele patogenice lezionale.

1. **Antigenele streptococice și acțiunea lor toxică și imunogenă.** Cercetările microbiologice, încă dinainte de 1940, au precizat că toate tipurile de streptococ beta-hemolitic grup A pot să producă cardita reumatismală (Lancefield, 1927, 1931, 1959). Spre deosebire de glomerulonefrita streptococică care este produsă numai de un tip din grupul A, cardita reumatismală este produsă de fiecare din cele 50 de tipuri, însă cu o frecvență mult mai rară după infecția streptococică decît glomerulonefrita. Statisticile arată că chiar în infecțiile streptococice de colectivitate, cardita reumatismală se produce numai la 0,1 pînă la maximum 3%.

Analizele de înaltă tehnicitate au arătat că structura antigenică a streptococului de grup A este foarte complexă, precizîndu-se structuri biochimice așezate în membrana bazală și înăuntrul celulei microbiene (fig. 28).

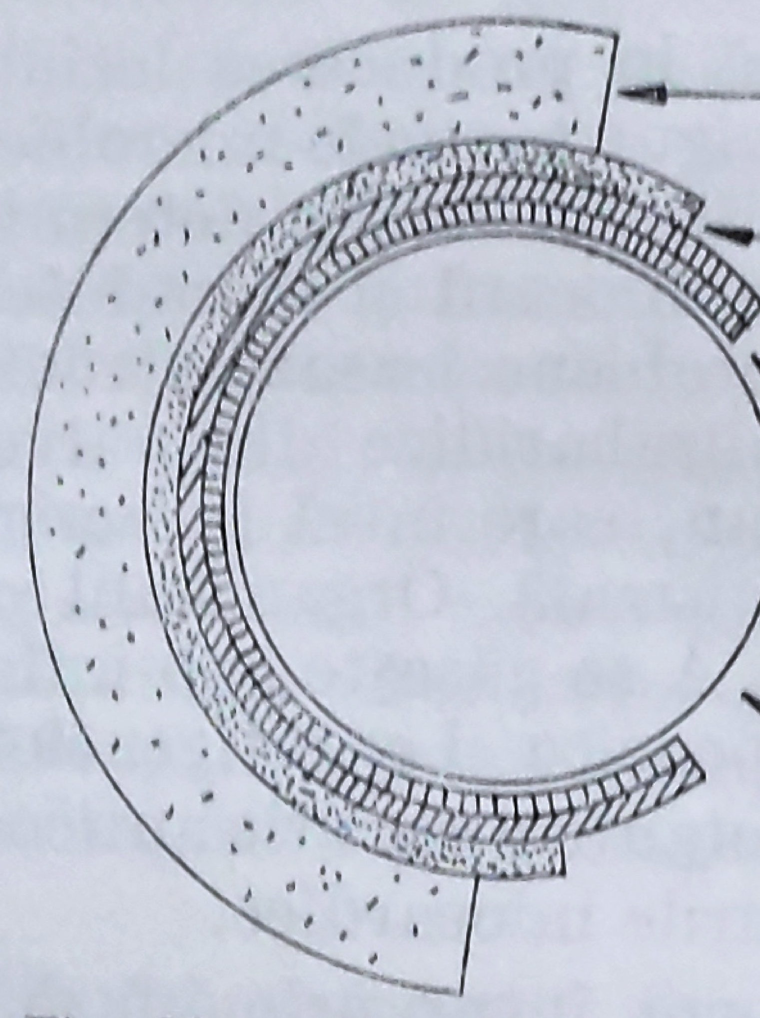


Fig. 28. — Structura antigenică a membranei streptococului hemolitic grup A (după Krause, 1963).

Sub capsula mucopolizaharidică, în peretele celulei, se găsește proteina M, considerată mult timp ca cea mai importantă în imunologia bolii. Este specifică fiecărui tip serologic din cele 60 de tipuri; este legată de patogenitatea streptococului; inhibă fagocitoza și dă IDR de tip tardiv, însă numai la adolescenți și adulți după expuneri mai îndelungate la infecții. Deși se crede că fracțiunea de imunizare tardivă nu este proteina M, ci un factor asociat care nu s-a putut izola, complexul M este antigenul care conferă prin sensibilizare celulară imunitate pe toată viața (Scrobohaci, 1969).

Al doilea strat este ca structură carbohidrat, conținînd fracțiunea specifică N-acetil-glucozamină, care precipită cu serul imun antistreptococic dînd o bandă omogenă în zona IgA (McCarty, 1958; Krause, 1963; Osterland, 1966). În structurile de colagen, de glicoproteine, inclusiv în valve, frac-

țiunea imonugenă este tot un grup terminal de tip N-acetil-glucozamină, în genere fixat pe o proteină și care dă crossreacții cu N-acetil-glucozamina din peretele streptococic.

În stratul următor se găsesc tot complexe polizaharidice — mucoproteina M cu structură mai complexă — care, injectate la animal, dau leziuni nodulare necrotice, comparabile cu leziunile nodulare Ashoff, numai că primele se remit foarte repede.

Ultimul strat conține complexe antigenice cunoscute ca *protoplaști* cu fracțiuni antigenice specifice pentru streptococi, însă crossreactante cu membrana sarcolemică a fibrei musculare și a fibrelor musculare în general (Kaplan și colab., 1963). Produce de asemenea o sensibilizare celulară de tipul rejecției de grefă renală, motiv pentru care se consideră că aceste antigene ar fi crossreactante cu unele antigene din sistemul HLA (Chase și Rappaport, 1965 ; Zabrosky și colab., 1973), pe baza unor similitudini de structură chimică (Robert și colab., 1972) (vezi cap. II, D).

Antigenele extracelulare sînt produse toxice secretate în mediile de cultură de către streptococi. S-au izolat 20 de fracțiuni, dintre care unele au efect pirogen și de producere a eritemului scarlatiniform al eritrotoxinei ; streptolizina 0 are acțiune letală și cardiotoxică ; de asemenea, proteaza, cu acțiune necrotică miocardică, este deosebit de importantă în declanșarea leziunilor de cardită reumatismală.

Dintre toate produsele toxice antigenice din structura streptococului, exotoxinele sînt singurele care pot fi considerate ca determinante pentru leziunile inițiale de miocard. Experimental însă niciuna nu produce leziuni specifice reumatismale, ci numai leziuni exsudative vasculare și necrotice, care nu seamănă cu nodulul reumatismal (Gingsburg, 1972). Pînă acum singura reproducere a unor leziuni care se apropie de nodulul Ashoff a fost obținută de Murphy (1964), însă cu injecții repetate de streptococ viu la iepure și nu cu un produs toxic separat.

Ceea ce este important în patogenia reumatismului acut este că infecția streptococică persistă mult timp, inițiind astfel leziunile toxice directe pe cord și producînd o continuă stimulare imună. Nu s-a precizat cauza acestei incapacități de eliminare a infecției streptococice la cei care fac boala reumatismală. Este sigur că terapia cu penicilină administrată în doză mare, pe o perioadă de cel puțin 6 săptămîni, produce o eradicare a infecției. Sînt posibile recidive în genere la copii cu complicații diverse. Se pare că o structură genetică cu un defect în zona Ir ar explica această predispoziție fenotipică, cu un deficit de apărare față de un anumit tip streptococic. Deși s-a susținut de mult o predispoziție familială, studiile făcute la gemeni univitelini arată o incidență rară la aceștia, deși au aceeași structură imunogenetică în sistemul HLA. De asemenea, nu se dovedește o incidență crescută a febrei reumatismale pentru anumite fenotipuri HLA. Unii autori consideră totuși că bolnavii cu febră reumatismală au mai puține determinante antigenice în sistemul HLA comparativ cu cei care nu fac boala. Predispoziția mai mare a secretorilor din grupul sanguin 0, susținută de Glynn și Galborow (1961), recent nu mai este luată în considerație.

Chiar dacă nu se cunoaște bine alterarea imună care condiționează persistența streptococilor și recidivele lor, există dovezi că această persistență ar fi în formă latentă poate pentru toată viața. Formele morfologice

descrise ca streptococ L sau alte mutații de adaptare sînt interesante ca mod de perpetuare a infecției în organism, însă nu au fost izolate în fazele de evoluție a febrei reumatismale la om, ci numai la șoarecele infectat experimental.

2. **Reacțiile imune neadecvate ale organismului reumatismal.** Primele cercetări au pus în evidență prezența anticorpilor antistreptococici de la începutul carditei reumatismale ; mai tîrziu s-au precizat specificitatea și caracterele lor serologice. Persistența streptococului și a leziunilor miocardice cu eliberare de antigene tisulare întrețin persistența anticorpilor ASLO și antiproteină M. Prin imunfluorescență s-a dovedit crossreacția anticorpilor cu antigenele cardiace și antigenele streptococice (Kaplan și colab., 1970). Anticorpii sînt specifici de organ (cord, anse intestinale, mușchi striați și netezi, vase), indiferent de specie. Nu este sigur însă că ar fi specifici pentru proteina M, întrucît la animal se produc seruri specifice cu streptococ indiferent dacă acesta conține sau nu proteina M. Antigenul specific ar fi localizat în membrana microbiană (Zabriskie, 1970) și ar conține proteina M, diferențele de structură fiind legate de metodele de izolare. Anticorpii serici ai bolnavilor sînt similari cu anticorpii de la animalul imunizat cu extract total de cord infectat microbian.

În perioada de boală, anticorpii în ser au o concentrație de 10 ori mai mare decît la persoanele indemne, ceea ce conferă o valoare de diagnostic pentru atingerea miocardică atunci cînd alte semne sînt incerte (Zabriskie, 1970). În plus, în alte atingeri endomiocardice ca în LED, anticorpii antistreptococici sînt absenți. Au de asemenea importanță prognostică, fiind în concentrații mai mari după 2—3 luni, ulterior, dacă procesul este în regres, scăzînd pînă la concentrații normale după 2 ani. Reapar însă în reinfecții streptococice sau poate prin reactivarea formelor L, precum și în recidivele de cardită la bolnavii care nu au fost tratați corect cu penicilină.

Există însă o diferență între anticorpii care apar numai față de antigenele cardiace întrucît se absorb numai cu țesut miocardic, nu și cu antigene streptococice ; apar de asemenea la bolnavii operați pe cord care nu au avut infecție reumatismală.

La bolnavii cu cardită reumatismală anticorpii sînt crossreactanți, absorbindu-se atît cu antigenele miocardice, cît și cu cele streptococice. În leziunea miocardică, la imunfluorescență anticorpii apar cu IgG, însă nu este dovedită includerea lor în CI.

La bolnavii cu leziuni de valve, anticorpii serici sînt crossreactanți cu antigenele valvulare mucopolizaharidice, și anume cu fracțiunea N-acetil-glucozamină.

Dacă prezența anticorpilor specifici pentru antigenele streptococice și antigenele miocardice și valvulare este bine dovedită, nu este însă sigură acțiunea lor toxică pe țesuturile cardiace.

Reacția imună celulară este unanim considerată ca fiind aceea care menține starea de hipersensibilitate și produce leziunile cardiace granulomatoase, nodulii Ashoff, cu structură caracteristică de celule hiperbazofile, limfocite, plasmocite, celule gigante și celule caracteristice Anicicov. Biopsiile făcute în cursul corectării chirurgicale a valvulopatiilor au per-

mis studiul acestor noduli, care persistă ani de zile după stingerea procesului reumatismal (Murphy, 1964). Infiltrația celulară se aglomerează în noduli, disociază fibrele musculare, care degenerează ca în procesele de leziuni citotoxice limfocitare de tip IV, în care țesutul „țintă" îl constituie fibrele musculare. Aceste leziuni de tip tardiv, semnalate de mult timp (Glaser și colab., 1956), apar după o evoluție mai îndelungată a infecției reumatismale, în genere după vîrsta de 4 ani și după o perioadă mai lungă de imunitate umorală cu producere de anticorpi.

Starea de hipersensibilitate celulară este dovedită și prin testele de transformare blastică a limfocitelor bolnavilor în prezența antigenelor streptococice. Este discutabilă însă transformarea blastică cu streptolizină S, care pare să fie un mitogen policlonal ca și PHA, reacționînd și cu limfocite normale (Kaisser și colab., 1972). Mai fidel și mai specific se dovedește testul de sensibilizare a limfocitelor cu producere de MIF, care este pozitiv cu antigene crossreactante de streptococ și de miocard. Natura antigenului care dă reacția MIF cu limfocitele bolnavului nu este bine precizată. Nu ar fi proteina M, căci apare și după înlăturarea acesteia prin tripsinizare ; este însă un antigen din membrana streptococului de grup A, deoarece cu antigene din alte grupe testul este negativ.

În evoluția bolii testul pozitiv pentru sensibilizarea limfocitelor este de mare semnificație. Nu scade ca intensitate decît după 4 ani de evoluție, mult după ce anticorpii circulanți au dispărut. Această fază coincide cu perioada de formare a leziunilor miocardice prin nodulii Ashoff, care persistă toată viața. În statistica lui Murphy, noduli Ashoff au fost găsiți la 70% din cazurile operate pentru valvulopatii, fără evoluție clinică și cu testele umorale negative.

În încheiere, considerăm ca bine justificate următoarele concluzii ale lui Zabrisky : boala cardiacă reumatismală se datorește unui complex de factori în care se intrică o predispoziție genetică, cu dificit imun de apărare, și persistența infecției streptococice ; aceasta determină răspunsul imun umoral anticorpic și celular cu limfocite sensibilizate, cu acțiune toxică miocardică. Leziunile evolutive cronice se datoresc mai ales limfocitelor sensibilizate, la care se adaugă și o acțiune posibilă a anticorpilor crossreactanți în faza de început. Faptul că nu există o fixare a complementului în leziune, iar complementul seric nu este scăzut, pledează pentru un efect toxic redus al anticorpilor.

Leziunile inițiale după acțiunea directă a toxinelor streptococice cu caracter exsudativ și necrotic, pot să fie continuate și de acțiunea anticorpilor sau a unor CI care trebuie însă dovedite. Reacțiile imune de hipersensibilizare celulară prin streptococ și de autosensibilizare prin antigenele proprii definesc caracterul de boală autoimună mixtă prin anticorpi și prin mecanism celular care se autoîntreține. Spre deosebire însă de alte boli autoimune cu leziuni viscerale continue — cum este LED — leziunile imune din cardita reumatismală progresează mulți ani și la o anumită vîrstă se pot stinge dacă s-a eliminat sursa de antigen streptococic și s-au oprit distrugerile tisulare cu generare de noi autoantigene. Cu tot complexul mecanismelor imune și autoimune, evoluția bolii este determinată în primul rînd de persistența îndelungată a streptococului, care trebuie eliminat prin terapie curativă și profilactică, metodă de bază în întreruperea lanțului imunologic al leziunilor.

Terapia de imunosupresie ca în alte boli autoimune nu este justificată. Eliminarea masei de limfocite cu efect toxic pe miocard se va produce după o anumită perioadă cînd s-a stins infecția streptococică eliminîndu-se astfel sursa antigenică primară. Imunosupresivele administrate cu scopul de a distruge masa de limfocite T sensibilizate pot să scadă răspunsul de apărare imună, favorizînd infecțiile streptococice și recidivele reumatismale.

D. *Mecanisme imunopatologice în bolile de rinichi*

În glomerulonefritele umane și experimentale mecanismul prin CI este bine dovedit; în prezent se acceptă existența mai multor mecanisme prin CI care determină glomerulitele, atît în fazele acute, cît și în cele cronice.

Primele cercetări au arătat că în boala serului, CI circulante se localizează după natura lor în mezangium și subendoteliu, între acesta și membrana bazală glomerulară (MBG). Urmărirea CI în circulație și în glomeruli, prin imunfluorescență și microscopie electronică, a precizat acest mecanism în glomerulonefrita poststreptococică. Între localizarea CI și a anticorpilor anti-membrană bazală s-a constatat o corespondență. Delimitarea sindromului Goodpasture, ca afecțiune hemoragică pulmonară prin alterarea membranelor bazale alveolare, s-a conturat un model de studiu la om a nefropatiei prin autoanticorpi, cu acțiune distructivă pentru membranele bazale.

În ultimii 10 ani, studiul sistemului C în ser și în leziune a delimitat în plus o formă de glomerulonefrită subacută cu scăderea marcată a C: glomerulonefrita cu hipocomplementemie (Verner, 1970; McClusky, 1970). Modelele experimentale și studiile la om prin imunfluorescență, microscopie electronică, serologie și investigațiile pe rinichiul grefat și rejectat pun în evidență următoarele tipuri de nefropatii imunologice:

1) *Glomerulonefrita* acută sau subacută *prin CI*, cu leziuni inflamatorii proliferative sau de glomerulonefrită membranoasă, avînd ca tip sindromul nefrotic.

2) *Glomerulonefrita prin anticorpi anti-MBG*, mai rară dar bine conturată în sindromul Goodpasture și în unele rejecții de rinichi grefat.

3) *Glomerulonefrita prin hipocomplementemie.*

În lumina datelor actuale trebuie revizuită ipoteza asupra mecanismului imun de evoluție de la glomerulonefrita acută spre cea cronică (Berceanu, 1975). În prezent este greu de acceptat că glomerulonefrita acută postreptococică prin CI dacă nu se vindecă se continuă spre forma cronică printr-un mecanism autoimun, prin autoanticorpi anti-MBG. Există argumente statistice epidemiologice care arată că cele două nefropatii sînt diferite și nu au decît foarte rar o evoluție secvențială (Wilson, 1976).

Din analiza datelor experimentale și clinice recente se pot contura unele sinteze necesare clinicianului pentru explicarea mecanismului imunopatologic al nefropatiilor. Pentru aceasta este necesară o delimitare a tipurilor histologice precizate pe baza noilor investigații imunochimice,

care se pot clasa astfel (Allen și Reeves, 1977) : *(1)* glomerulonefrita membranoasă, tip sindromul nefrotic cu leziuni de îngroșare a membranelor bazale ; *(2)* glomerulonefrita proliferativă cu proliferare în celulele din endoteliu și mezangium, cu îngroșări și ruperi de membrană bazală, însă cu infiltrații polimorfonucleare reduse ; o combinație a acestor leziuni constituie glomerulonefrita mixtă membrană-proliferativă ; *(3)* glomerulonefrita cu exsudat inflamator în spațiile subcapsulare care formează o semilună („crescent") sub capsula Bowman. Forma proliferativă prin leziuni intracapilare în forma cronică ajunge la nefrita lobulară cu degenerescență hialină scleroasă a mai multor anse glomerulare.

Infiltrația interstițială cu leziuni în tubii distali este reconsiderată în cadrul leziunilor prin anticorpi antimembrană bazală tubulară (MBT) (Wilson, 1975).

1) *Glomerulonefrita acută prin CI*

La om, glomerulonefrita prin CI este forma cea mai frecventă de nefrită acută. După Wilson, la 80% din bolnavii studiați prin imunfluorescență se găsesc CI cu IgG, IgA, IgM și C3. Depunerea este caracteristică CI sub formă de granule fine sau neregulate, difuze sau în focare de-a lungul membranelor bazale aproape de mezangium. Alteori, granulele sînt fine și regulate, luînd un aspect liniar ca leziunile din cazurile prin anticorp anti-MBG. Ca tip de anticorpi, predomină IgG, așa cum întîlnesc în glomerulonefrita în focar cu hematurie recurentă după infecții repetate respiratorii (Berger și colab., 1971 ; Van der Putte și colab., 1974 ; Vernier și colab., 1975). Depunerea complexelor în mezangium pare să condiționeze hematuria, întrucît CI rup membrana bazală, iar sîngele trece în spațiile subcapsulare.

Depunerile mari în membrana bazală cu îngroșarea acesteia, fără leziuni de inflamație la microscopul optic, determină glomerulonefrita membranoasă din sindromul nefrotic cu proteinurie.

Depunerile de CI cu C3 extragolmerular, în interstițiile renale și pe membranele bazale tubulare, apar în nefrita de rejecție a transplantului și frecvent în LED ; pot să mai apară în unele nefrite experimentale prin hipersensibilizare cu antigene renale și antigen Freund.

De remarcat, că în majoritatea cercetărilor asupra naturii CI cu antigene exogene nu s-au pus în evidență aceste antigene, ci numai antigenul endogen ADL din LED (Lechman și colab., 1975). Foarte rar și contestabil s-au găsit antigene streptococice nefritogene. Se poate ca unele CI din nefrita poststreptococică să fie cu autoantigene de tip IgG, ca un factor reumatoid, care posibil să fie captat secundar și să nu aibă rol patogenic (Mc Intosh și colab., 1970). Există apoi CI în macroagregate crioglobulinice, însă de asemenea lipsite de antigene streptococice.

Punerea în evidență a CI în circulație, prin metodele actuale, în cursul glomerulonefritei, a permis să se deceleze (Ooi și colab., 1977), la 15 din 20 de bolnavi, complexe de tip 16—19S, mai ales cu IgM și C3, însă tot lipsite de antigen streptococic. Wilson (1976) consideră că meto-

dele de legare C1q — celule Raji și reacția cu factor reumatoid monoclonal constituie o cale nouă pentru a se dovedi rolul CI în leziunile de glomerulonefrită (Adam, 1973).

Evoluția leziunilor după depunerea de CI este discutabilă. Se admite că prezența polinuclearelor nu este necesară pentru a se produce un anumit tip de glomerulită, deși histopatologic ele determină leziuni speciale, ca nefrita cu depozite în semilună. Activarea coagulării și a depunerilor de fibrină joacă un rol predominant atît în formele subcapsulare, cît și pentru leziunile în mezangium (Vassale și colab., 1964; Alkjaersig și colab., 1976). Există însă cercetări care arată că polimorfonuclearele accentuează depunerile de fibrină (Naish și colab., 1975), insistîndu-se asupra rolului proteazelor lizosomale (Saunders și colab., 1976). Plachetele, deși CI le poate agrega, nu ar avea un rol în producerea leziunilor.

În etiologia glomerulonefritei acute la om se recunoaște frecvența streptococului hemolitic nefritogen, de tip 4, 12, 24 sau 49 (Kaplan și colab, 1970). Se admite o frecvență a determinărilor renale la 13—30% din cei care fac infecții streptococice. Infecțiile sînt adesea cutanate, cu antigene T, infecțiile faringiene cu antigene M dau mai rar determinări renale. La nefritici apar anticorpi circulanți în 95% din cazuri și sînt mai ales de tip ASLO, antihialuronidază, antistreptokinază, fiind însoțiți de o scădere a complementului.

Histopatologic, glomerulonefrita poststreptococică este o glomerulită cu edem și proliferare de celule în endoteliu. Există leziuni proliferative în mezangium, vizibile mai ales la microscopia electronică. Se disting cele două tipuri de endoglomerulită proliferativă, cu necroză și hialinizare lobulară și formarea de depozite în semilună. Imunfluorescența arată că depozitele sînt de-a lungul anselor, cu dispersie granulară pe membranele bazale, sub endoteliu și în mezangium. Depunerile însă nu sînt specifice pentru etiologia streptococică.

Soarta depozitelor pentru evoluția nefritelor în forme subacute sau în forme cronice nu este bine precizată (Hall și colab., 1979). Numai la un număr mic de cazuri s-a putut urmări evoluția sclerogenă lent progresivă, cînd nu se mai găsesc depozite de CI (Baldwin și colab., 1971). Cercetările asupra CI din glomerulonefrite nu aduc date să explice leziunile de scleroză renală în definiția clasică a lui Vorhard și Fahr sau de boală Bright. Este posibil, ca și în cardita reumatismală cu evoluție lungă, să apară după CI cu antigene exogene sau autoantigene, așa cum s-a arătat în glomerulonefritele cronice prin vasculite hipergamaglobulinemice și în formele cu crioglobulinemii (v. cap. XI).

Glomerulonefrite cu CI prin alte antigene exogene sînt citate din ce în ce mai mult, atît prin cercetări la om, cît și prin cercetări experimentale sau în boli naturale la unele animale.

Glomerulonefrita cu CI în care s-a pus în evidență virusul însoțește hepatita cu antigene HB_s (Wallace și colab., 1974; Oldstone și colab., 1974) și infecțiile cu virus Epstein-Barr (mononucleoza infecțioasă și limfomul Burkitt) (Combes și colab., 1971; Brzosko și colab., 1975). În genere se suspectează ca glomerulonefrite virale toate cazurile în care nu se dovedește infecția streptococică și în care biopsia poate să pună în evidență prezența de antigene virale și anticorpi antivirali.

De reținut cazurile prin infecții parazitare, ca cele cu *Plasmodium falciparum* (Steward și Waller, 1973), de asemenea cu kalahazar și toxoplasmă (Gingsburg și colab., 1974).

Nefrita sifilitică poate să apară în forma secundară sau în sifilisul congenital, cu hematurie și insuficiență renală și cu depozite bogate de CI (Gamble și colab. ,1975), în care se decelează anticorpi specifici antitreponema.

Nefrită prin CI este considerată și glomerulonefrita în focar, care apare în cursul endocarditei subacute în formele rezistente la tratament. Antigenele ar fi legate de germeni asociați, ca stafilococul, întrucît se vindecă odată cu endocardita bacteriană. Nefropatiile prin CI din bolile autoimune, ca și cele din cursul neoplaziilor vor fi discutate la cap. VII și XII.

2) *Glomerulonefrite prin anticorpi anti-MBG*

Este al doilea tip de leziune glomerulară, bine delimitat imunologic, care apare în condiții etiologice speciale, avînd caracter de boală autoimună. Este caracterizată prin tipul de leziune glomerulară, în membrana bazală, pe care se depun Ig și C identificabile prin imunfluorescență sau microscopie electronică, după prealabilă tratare cu anticorpii antimembrană bazală marcați imunfluorescent sau cuplați cu feritină. Materialul imun se depune liniar, de-a lungul membranelor, aspectul fiind net diferit de cel granular prin CI.

Experimental, leziunile au fost realizate cu ser nefritogen (Andreas și colab., 1962; Druet, 1971) sau cu seruri anti-MBG. Anticorpii anti-MBG produc leziuni imediate pe MBG și, prin crossreacție, pe membranele bazale din alveolele pulmonare și chiar din placentă (Lerner și Dixon, 1966). De cele mai multe ori se produce fixare de C' și chimiotactism pentru polinucleare. Se pot transfera, dînd leziuni grave caracteristice (Sugisashi și colab., 1977). Există de asemenea eliminări normale de antigene de MBG care, reinjectate, produc anticorpi și leziuni pe membrane (Lerner și Dixon, 1968; Mc. Intosh și colab., 1971). În nefritele umane există de asemenea antigene de membrană în ser și în urină, identificate ca complexe de carbohidrați și crossreactante cu membranele bazale pulmonare. Prezența în circulație a acestor antigene în concentrații optime tolerogene menține o inhibiție a răspunsului imun autolog. În condiții patologice, cînd concentrațiile mari de antigene de membrană rup toleranța imună înnăscută, se instalează leziuni caracteristice de *nefrită prin anticorpi antimembrană bazală la om*. În acest sens pledează așezarea liniară caracteristică a anticorpilor și posibilitatea de a fi eluați la pH alcalin din material bioptic renal. S-a identificat un factor nefritogen după acțiunea colagenazei asupra membranelor bazale, care este o glicoproteină procolagenică.

La om, nefrita prin anticorpi anti-MBG apare în trei condiții clinice studiate bine în prezent.

a) *Sindromul Goodpasture* este o asociere de nefrită acută gravă, uneori fudroaiantă la tineri, cu hemoragii pulmonare (Beirne și colab., 1973).

La necropsie, s-au pus în evidență prin imunfluorescență și prin eluție anticorpi anti-MBG renali și din alveolele pulmonare. Se pot elua 2—34 μg anticorpi IgG/g de rinichi, care se testează specific prin RIA cu antigene obținute prin tratarea MBG cu colagenază. S-au pus în evidență și anticorpi circulanți cu o frecvență de pînă la 87 % din cazurile cercetate (Wilson, 1973).

Sindromul Goodpasture apare după o primă infecție, în special virală, cu acțiune pe membrane și cu eliminare de antigene nefritogene. Există posibilități de vindecare, prin plasmafereză și epurație renală. Prin testul RIA se poate monitoriza plasmafereza, repetîndu-se atît timp cît anticorpii persistă în circulație (Lockwood și colab., 1975). Nu se va face transplant renal decît după scăderea anticorpilor prin plasmafereză și în unele cazuri prin imunosupresie.

Dacă anticorpii nu persistă prea mult în circulație, leziunea din membrana bazală este reversibilă (Nowokowsky și colab., 1971; Eisinger, 1973 ; Wilson și Dixon, 1973).

b) *Glomerulita cu anticorpi anti-MBG prin ser antilimfocitar* a apărut la om după folosirea în imunosupresie a serului antilimfocitar (SAL), preparat cu material de țesut limfoid ganglionar care conține și antigene de membrană bazală. Folosit în grefa de rinichi, SAL poate produce leziuni ale rinichiului grefat (Wilson, 1976). Nu apar leziuni dacă se folosește SAL obținut cu limfocite cultivate în suspensie celulară pură, care nu conțin antigene de membrană și deci nici anticorpi anti-MBG contaminați.

c) *Glomerulita prin anticorpi* se produce pe rinichiul grefat la bolnavii care aveau înainte de grefă anticorpi circulanți anti-MBG. La 20 din 34 de transplante a apărut glomerulonefrită gravă, cu eliminare de grefă în 8 cazuri; la 28 de cazuri existau anticorpi înainte de transplantare, ceea ce explică incidența crescută a glomerulitei (Gausser și colab., 1973).

Dixon a atras atenția mai demult asupra rejecției de grefă a rinichilor la bolnavii cu nefropatii cu autoanticorpi anti-MBG. Toate statisticile însă arată că aceste nefropatii sînt rare. Wilson și Dixon (1974, 1976), pe 717 cazuri de glomerulonefrite imune, au găsit anticorpi anti-MB pentru rinichi și plămîni numai în 34 de cazuri și anticorpi anti-MBG în 23 de cazuri. Din 259 de cazuri de glomerulonefrită prin CI, numai în 2 cazuri s-au găsit anticorpi anti-MBG. În Anglia, statisticile arată de asemenea o frecvență redusă a glomerulonefritei prin anticorpi anti-MBG care s-au găsit numai în 11 din 400 de cazuri (Petras și colab.,1974) sau în 4 din alte 500 de cazuri (Comban și Wilson, 1977). Autorii atrag atenția că prezența anticorpilor anti-MBG este de scurtă durată și, dacă nu se produc leziuni ireversibile, sînt posibile vindecări.

O localizare cu frecvență importantă (70%) a anticorpilor anti-MB este pe MB a tubilor uriniferi; leziunile de membrană sînt limitate sau difuze (Lehman și colab., 1975; Wilson și Dixon, 1974). Leziuni de același tip apar și în nefrita interstițială, dar sînt localizate numai pe tubi fără afectarea glomerulilor. Leziunile s-au găsit în rinichiul grefat și foarte rar în glomerulonefrita cu CI (Tung și Block, 1975; Lehman și Wilson, 1975).

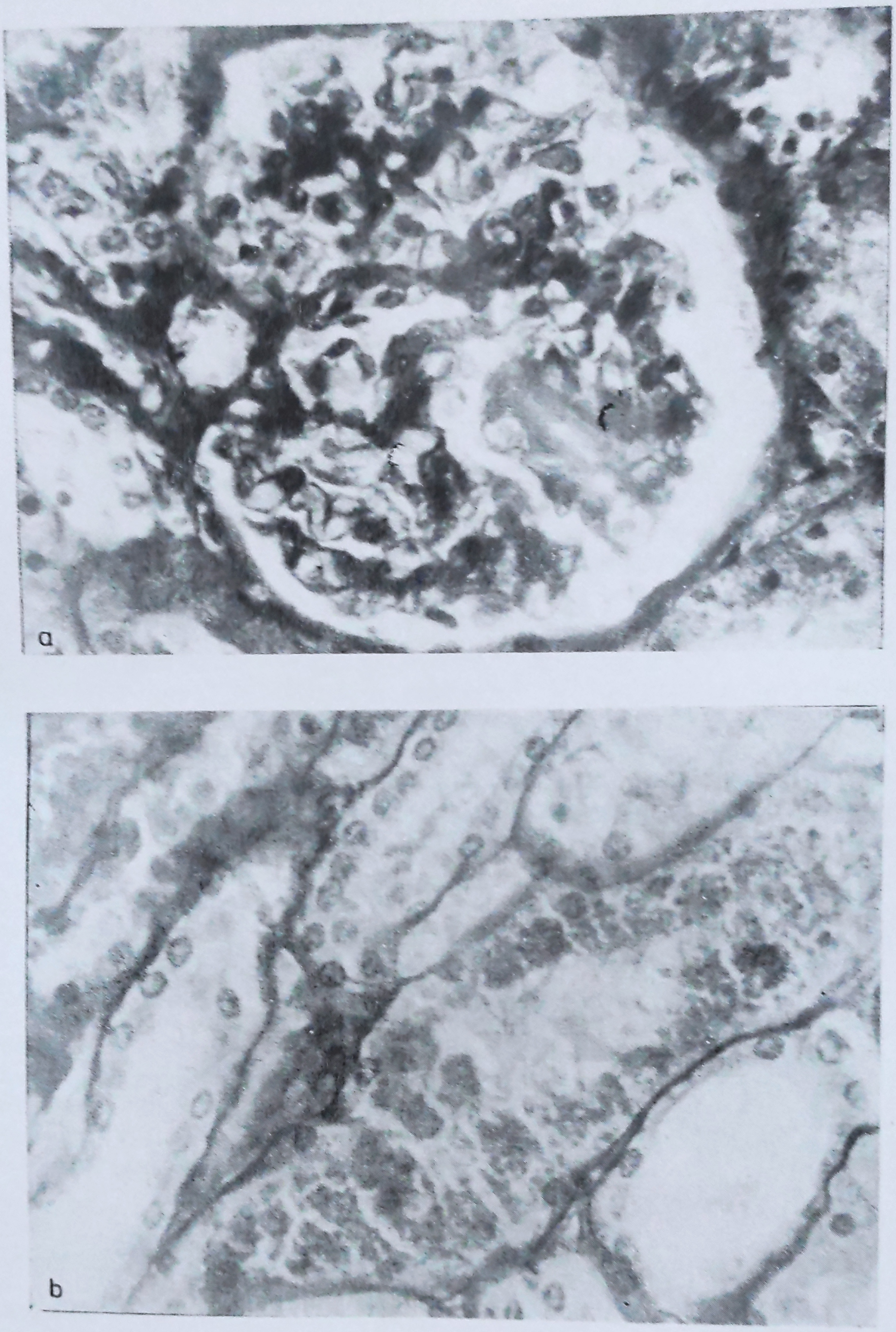


Fig. 29. — Leziuni de nefropatie lupică: glomerulită tip „wire-loop" *(a)*; îngroșări de membrane bazale tubulare *(b)*.

O analiză a patologiei renale imună prin anticorpi anti-MBG arată deci că anticorpii apar prin trecerea în circulaţie a antigenelor de MB. Acestea apar ca *antigene sechestrate* în structurile de colagen şi procolagen ale MB glomerulară şi tubulară şi de alveole pulmonare, trecînd normal în circulaţie numai într-o cantitate redusă, care asigură toleranţa imună faţă de ele. Condiţii speciale, inclusiv acţiunea unor infecţii virale, a unor substanţe hidrocarbonate (Beirne şi Brennan, 1972) sau prin leziuni de strivire (Hume şi colab., 1970), fac să treacă în urină şi circulaţie concentraţii mari de antigene şi să declanşeze producerea de anticorpi anti-MB.

În nefrita interstiţială prin pielonefrită, leziunile distructive inflamatorii predomină în zona medulară a tubilor distali, cu alterări numai ale membranelor bazale tubulare din această zonă. Imaginile histologice, cu îngroşarea membranelor bazale tubulare, sînt cu totul caracteristice în nefrita tubilor distali (fig. 29) (Berceanu şi colab., 1956) şi se explică prin acţiunea anticorpilor specifici de membrană. Este foarte posibil ca leziunile să se autoîntreţină în pielonefrita cronică prin acţiunea autoanticorpilor.

În glomerulonefrita prin CI, aşa cum s-a arătat mai sus, anticorpii anti-MBG apar foarte rar, leziunile întreţinîndu-se prin generarea de CI în cursul glomerulonefritei acută şi subacută. Nu se ştie ce se întîmplă în formele care evoluează spre nefrita cronică sclerozantă cu sindrom nefrotic şi glomeruloscleroză la care se asociază în nefrita interstiţială din zona medulară. Cronicizarea după glomerulonefrita acută este evidentă numai la 1% din cazuri (Vernier, 1970); cazuri de recidivă prin infecţii care vor duce la cronicizare sînt însă mai frecvente (2,5—10%) (Mc Clusky şi colab., 1963).

În leziunile medulare intervin desigur şi tulburări ischemice, dar poate că tocmai ischemia din zona medulară cu leziuni distructive eliberează antigene şi facilitează apariţia anticorpilor anti-MB. Poate că acestea sînt cazurile de nefrită cronică care ajung la transplant renal cu prezenţa în concentraţia mare a anticorpilor anti-MBG. Rejecţia de rinichi transplantat în aceste condiţii se poate explica pe lîngă răspunsul imun al gazdei faţă de transplantul alogen şi printr-o reacţie autoimună anterioară cu anticorpi, care devin acum agresivi faţă de rinichiul transplantat. Aceste date noi ridică încă probleme de imunologie specială în conducerea măsurilor pentru menţinerea grefei de rinichi.

3) *Glomerulonefrita cu hipocomplementemie*

În afara scăderilor de complement în ser şi a depunerilor în leziuni (C3), în multe cazuri de glomerulonefrită prin CI şi prin anticorpi anti-MB s-a remarcat o scădere foarte marcată a complementului seric, iar depunerile de C în leziune sînt predominante. În 1975 am caracterizat această formă de glomerulită cu hipocomplementemie, sintetizînd cercetările pînă la acea dată (Berceanu, 1975). Afecţiunea apare la copiii între 4 şi 14 ani, cu hematurie şi sindrom nefrotic. Histologic apare ca o glomerulonefrită membrano-proliferativă, cu depunere de material imun lamelară, subendotelială, dar şi în membranele bazale tubulare (Wilson, 1976).

Analizele imunochimice arată depuneri mari de C3 și de properdină. Wilson (1976) distinge un tip de leziune predominantă a MBG prin CI și un al doilea tip cu afectarea ambelor membrane, glomerulare și tubulare (Wilson, 1974; Habib și colab., 1975). Depuneri de complement și de properdină se găsesc și în nefrita lupică cu scăderi mari de complement seric (West și colab., 1971).

În forma caracteristică de la copii scade atît C global, cît și C3 și properdina, rămînînd normale fracțiunile C1, C2 și C4 (Noff, 1972). Evoluția este gravă, cu alură subacută sau cronică, iar durata de supraviețuire nu depășește 4 ani. Ca patogenie, este încă neclar mecanismul activării C și properdinei. Se poate ca inițial să fie o nefrită prin CI, care însă dispar din circulație și din leziune, rămînînd numai C și properdina în leziuni. Este posibilă o predispoziție familială, cu alterarea genetică a sistemului C, care predispune la infecții repetate și hipocomplementemie (Peters și Williams, 1973, 1974; Thomson și White, 1973; Gissour și colab., 1975).

Activarea C și depunerea sa în glomeruli a fost dovedită și prin eluarea sa din fragmente bioptice; în plus s-au pus în evidență în circulație unele enzime și o globulină cu rol nefritogen denumită C_3NeF (Valloti și colab., 1974; Peters și colab., 1974; Schreiber și colab., 1975). Așa cum afirmă Wilson (1974), aceste noi mecanisme patogenice deschid un cîmp nou de cercetare pentru lămurirea multor forme de nefrite, cu evoluție mai ales subacută, în care modificările complementului și ale căii properdinice par să joace rolul predominant (Lambert și colab., 1974).

Defectul congenital cu hipocomplementemie trebuie cercetat în special în glomerulonefrita subacută la cazuri cu predispoziție la infecții repetate. Sînt posibile și alte asocieri de deficit imun de tip T sau macrofagic (Camerun și Williams, 1977), mai puțin cercetate în nefropatii (Shachaub, 1974). Asocierile cu unele disglobulinemii, mai ales în sindromul nefrotic, cu tulburări în titrul de IgE merită să fie urmărite în mod deosebit (Reeves și colab., 1975).

VII

Imunopatologia generală a bolilor autoimune

Selectînd cu mult discernămînt cunoştinţele actuale, în genere analitice, şi confruntîndu-le cu unele sinteze mai vechi (Mitchinson, 1968; Nossal, 1968), precum şi cu unele încercări sintetice mai recente (Jerne, 1971; Katz şi Benacerraf, 1972; Nossal, 1975; Playfeier, 1975; Rose, 1975; Swamborg, 1976), vom încerca să conturăm o concepţie cît mai simplă asupra patogeniei leziunilor şi bolilor autoimune pe care clinicianul trebuie să le precizeze ca diagnostic pe baza unei investigaţii noi în vederea unei terapeutici cît mai specifice.

În concepţie unitară (cap. IV), procesele imune prezintă o ramură „activă" de eliminare a antigenelor nonself prin răspunsul imun şi o ramură pentru conservarea antigenelor self structurale, toleranţa imunologică înnăscută, aceasta din urmă instalîndu-se în perioada dezvoltării embrionare, ca o consecinţă a contactului dintre SI şi antigenele tisulare pe cale de maturare. Această populaţie limfoidă constituie „clonele interzise" sau „clonele în deleţie" (Nossal, 1975).

Încă prin cercetările lui Burnet şi ale lui Medawar şi colaboratori s-a dovedit că există o toleranţă imună înnăscută faţă de toate antigenele de organe, care au venit în contact cu sistemul limfoid. Pentru structurile tisulare, care topografic rămîn în afara contactului cu limfocitele circulante, nu există instalată o toleranţă imunologică înnăscută. Sînt aşa-zisele „antigene sechestrate" ca tireoglobulina, cristalinul, materialul uveal al ochiului şi cel spermatogenic. În această concepţie, un răspuns imun faţă de antigenele proprii poate să se producă pe două căi patogenice: *1*) prin ruperea toleranţei imune faţă de autoantigene; *2*) prin expunerea antigenelor sechestrate la acţiunea aparatului imun.

O primă schemă de clasificare expusă de noi încă din 1968 pe baza acestor mecanisme împarte bolile imunologice în două grupe mari:

1) Boli prin ruperea toleranţei imune faţă de antigene self, ca LED, PCE, AHAI etc.

2) Boli prin reacţie imună faţă de antigene sechestrate ca tiroidita autoimună, oftalmia simpatică şi aspermia autoimună.

Diversificarea cunoştinţelor asupra funcţiilor aparatului imun pentru clinician nu a schimbat fundamental această concepţie. S-au adăugat însă noi date de care trebuie să ţinem seama pentru a explica situaţii patogenice specifice diferitelor forme de boli autoimune.

A. *Sinteză actuală asupra patogeniei bolilor autoimune*

Se admite că există boli autoimune complexe, ca LED (Playfeier, 1975; Rose, 1979), în care se constată o tulburare profundă a aparatului imun cu declanşare de răspuns autoimun umoral şi tisular faţă de mai multe antigene. Există însă boli autoimune cu o dereglare mai simplă, în genere legată de alterarea unei ramuri a sistemului imun, de cele mai multe ori în funcţie de modificările structurilor antigenice, cum ar fi anemia hemolitică care apare după infecţii virale sau sub acţiunea unor droguri.

O concepţie nouă trebuie să ţină seama că cercetările actuale nu mai fac o separare tranşantă între răspunsul imun faţă de nonself şi toleranţa faţă de self. S-a dovedit că în circulaţie există concentraţii mici din toate antigenele self, sechestrate sau nesechestrate. S-a descris, spre exemplu, prezenţa în ser a tireoglobulinei şi a proteinei encefalitogenă, faţă de care se consideră că nu ar exista toleranţă imună deoarece aceste substanţe nu apar în circulaţia generală. Lucrări mai vechi, ale lui Mitchinson, au precizat posibilitatea inducerii unei stări de toleranţă, prin cantităţi mari de antigene, care blochează răspunsul limfocitelor B (v. cap. III, H). Toleranţa prin concentraţii minime de antigene, demonstrată mai recent, presupune că limfocitele T supresoare inhibă răspunsul antiself al limfocitelor B, primele jucînd rolul clonelor interzise în concepţia lui Burnet. Această completare a ipotezei iniţiale duce la concepţia că şi toleranţa imună este un fenomen imunologic activ, comandat genetic şi menţinut prin cooperarea Ts — Th — B (Nossal, 1975), (v. cap. III, H).

Descoperirea anticorpilor anti-idiotipuri (Jerne, 1976) arată că aceşti anticorpi intră în reglarea răspunsului imun faţă atît de self, cît şi faţă de nonself. De la cercetările lui Christian şi Abruzzo (1965), s-a renunţat la conceptul de „horor autotoxicus'' al lui Ehrlich, întrucît în organism există anticorpi în concentraţie mică faţă de toate autoantigenele, aşa cum sînt şi anticorpii anti-idiotipuri. Aceşti autoanticorpi ar regla răspunsul imunologic general prin blocarea răspunsului imun faţă de autoantigene. În condiţii fiziologice, self-antigenele circulante, autoanticorpii şi anticorpii anti-idiotipuri ar menţine un efect supresiv la nivel de limfocit Ts care ar determina starea de imunorepresie faţă de antigenele self.

Mecanismele posibile pentru ruperea toleranţei imune ar fi, după Burnet, de trei feluri: (*1*) condiţii care să producă un răspuns imun faţă de antigenele sechestrate; (*2*) condiţii care să rupă toleranţa imună înnăscută ca în stările de hipersensibilizare cu antigen Freund sau după infecţiile virale, în special prin modificarea antigenelor self; (*3*) proliferarea malignă a sistemului limfocitar cu alterarea funcţiilor clonelor interzise sau a celor active, care nu mai recunosc antigenele self şi produc răspuns autoimun, model AHAI din leucoza limfatică cronică.

Ţinînd seama de unele ipoteze actuale asupra relaţiei dintre răspunsul imun şi toleranţa imună se pot formula următoarele mecanisme de boală autoimună: (1) *Trecerea în circulaţie* a unei concentraţii mari de antigene self, care să depăşească pragul tolerogen şi să activeze astfel fie

limfocitele Th depresate, fie direct limfocitele B. Aceasta este posibil în stări infecțioase sau toxice care „descoperă" și descarcă cantități mari de antigene (ca în bolile prin CI, ca febra reumatismală, glomerulonefrita cu anticorpi anti-MBG). (2) *Stările de hipersensibilizare* întîlnite în patologie în bolile prin CI, în care hipersensibilizarea se produce prin antigene nonself persistă ca urmare a unui deficit imun. Se produce o dereglare a răspunsului imun cu exces de antigene, de CI, de anticorpi și probabil de anticorpi anti-idiotipuri, care ar deregla cooperarea imună normală între T și B. Aceasta duce la o scădere a imunodepresiei specifice față de un anumit autoanticorp, antigenele nonself putînd stimula celulele B pentru self, care, eliberate de acțiunea lui Ts, pot să producă un răspuns autoimun față de self-ul respectiv. Hiperimunizarea prin antigen Freund ar acționa asemănător, mai ales dacă se încorporează extrase alo- sau autoantigenice : fracțiunea antigenică din complexul microbian omorît stimulează limfocitul Th, precum și limfocitul B reprimat, depășind imunorepresia prin limfocit Ts. Apare astfel un răspuns autoimun .(3) O cauză frecventă în patologia clinică este *acțiunea unor antigene străine* cu caracter de haptenă care, pătrunse în circulație, modifică structura antigenelor proprii. Există o bogăție de cercetări experimentale care reproduc reacțiile autoimune prin această stimulare imună cu substanțe haptenice administrate intravenos, intraperitoneal sau prin contact cutanat, care dereglează răspunsul imun determinînd autoimunizări. Recent, Rose (1979) conchide că această modalitate patogenică condiționează cele mai multe boli autoimune umane. Infecții cu virusuri care aderă pe celule modificîndu-le antigenele de suprafață (ca în PTI sau în AHAI), precum și efectele autoimune prin droguri sau diverse stări toxice care alterează celulele sau structurile tisulare (fibrele musculare, membranele bazale etc.). (4) *Infecțiile, în special virale* (v. cap. III, E), creează încă o condiție particulară de autoimunizare. Așa se întîmplă cu infecția mononuclearelor prin virus Epstein-Barr și infecția celulelor din sistemul nervos central prin virusurile vaccinei și rubeolei, care schimbă structura antigenică a celulelor infectate. În genere, se produce o disociere între răspunsul imun anticorpic și cel celular, față de virusul infectant, cu consecințe patologice importante. Cercetările experimentale și observațiile la om au arătat că, pentru anumite antigene circulante sau sechestrate ca Ig, hormonii, tireoglobulina, sînt necesare modificări de structură chimică pentru a deveni puternic imunogene și a produce o reacție autoimună. Cercetări recente asupra producerii de autoanticorpi față de IgG și tireoglobulină au arătat diverse modalități de modificare a lor, ca încălzirea sau cuplarea cu alte antigene, cum este lipopolizaharidul sau chiar combinarea lor în CI (Weigle, 1975). De asemenea, modificarea unor produse antigenice în cursul unor infecții cresc puterea lor imunogenă (5). *Antigenele crossreactante* rămîn un model clasic de producere a bolilor autoimune (v. cap. VI, C). În bolile autoimune care apar în variate neoplazii, se produc eliberări de antigene din țesuturile neoplazice crossreactante cu alte antigene proprii ; astfel apar boli autoimune ca sindromul nefrotic, AHAI, sclerodermia și altele. (6) *Alterarea SI central* prin infecții virale sau prin stări de hipersensibilizare constituie o altă modalitate de mecanism autoimun. Trebuie ținut seama că în patologia experimentală bolile autoimune spon-

tane apar numai la anumite linii de animale, ca boala lupică la șoarecele NZB/W; de asemenea, inducerea experimentală a tiroiditei autoimună și a bolii lupice sînt dependente de structura genetică a sistemului H-2. Se cunoaște frecvența pentru anumite boli autoimune dependentă de sistemul HLA. În afară de predispoziția genetică, există însă și alterări ale SI central, așa cum s-a arătat în infecții virale care dereglează relațiile Ts, Th și B, alterînd funcția de recunoaștere a receptorilor (Broder și Waldman, 1978).

B. *Clasificarea bolilor autoimune*

Întrucît patogenia bolilor autoimune nu este clară pentru toate grupele de boli, o clasificare strict patogenică este foarte dificilă. Credem că pentru clinician este necesară totuși o clasificare și o prezentare pe grupe patogenice (Berceanu, 1968, 1975). Raportate la ipotezele patogenice actuale, unele grupe se conturează după predominanța anumitor leziuni. În altele, mecanismele patogenice sînt complexe, dar predomină un tip de leziune, cum sînt bolile de colagen. În sfîrșit, rămîne o grupă largă de boli cronice cu mecanisme de autoîntreținere diferite, self-perpetuarea răspunsului imun fiind condiționată de persistența anumitor antigene străine, ca antigenele virale din hepatita cronică agresivă la care se adaugă self-antigene modificate. În mecanismele patogenice ale unor boli pulmonare și digestive este, de asemenea, discutabil rolul infecțiilor cronice, rolul deficitelor imune de tip umoral, mai ales de IgA, și rolul factorului genetic.

Ținînd seama de toți acești factori (determinismul genetic, deficitul imun, toleranța imunologică slabă, antigenele sechestrate cu concentrații de antigene în limite tolerogene, persistența unor antigene nonself), bolile autoimune sau presupuse autoimune pot să fie abordate după schemele elaborate anterior de noi și anume:

Clasificarea bolilor autoimune

1) *Boli prin antigene sechestrate*: Tiroidita autoimună. Oftalmia simpatică. Aspermia. Neuropatiile demielinizante.

2) *Hemocitopenii autoimune*: Anemia hemolitică autoimună (AHAI). Purpura trombocitopenică idiopatică (PTI). Purpura trombotică trombocitopenică (PTT). Aplazia medulară și anemia prin eritroblastopenie. Boala Biermer.

3) *Bolile de colagen*: Lupusul eritematos diseminat (LED). Poliartrita cronică reumatoidă. Periarterita nodoasă. Boala Takayashu. Arterita temporală cu celule gigante. Polimialgia reumatoidă. Sindromul Sjögren. Sindromul Stevens-Johnson. Sindromul Behçet. Sclerodermia. Polimiozita și dermatomiozita.

4) *Boli cu mecanisme hiper- și autoimune complexe*: Miocardopatii primitive sau postvirotice. Hepatita cronică agresivă. Afecțiuni digestive: gastrita atrofică, ileita terminală și enterocolita hemoragică.

C. Lupusul eritematos diseminat (lupo-eritematoviscerita sistemică) (LED)

LED este boala imună cea mai bine studiată şi dovedită ca afecţiune autoimună sistemică a ţesutului colagen, care prezintă aproape în toate compartimentele organismului leziunea clasică de degenerescenţă sau necroză fibrinoidă. Leziunea de degenerescenţă fibrinoidă a fost considerată, încă din 1933, ca leziune alergică a structurilor de colagen. Mult mai tîrziu, după 1950, s-a arătat că leziunea de degenerescenţă fibrinoidă a ţesutului colagen este numai o modificare fizică prin depunerea de CI variate, concomitent cu un material fibrilar, care nu este altceva decît fibrină rezultată din activarea coagulării. De aceea sînt mulţi autori care includ în bolile de colagen şi afecţiunile generate de CI prin hipersensibilizare cu antigene cunoscute, ca glomerulonefrita şi cardita reumatismală poststreptococică (Miescher, 1976).

Există cîteva date importante în cunoştinţele asupra bolii lupice sistemice. Mai întîi, Hebra (1845) descrie forma cutanată, iar Cazeave şi Chauzit (1852) folosesc termenul de lupus eritematos. Kapossi (1872) şi Ossler (1895) descriu determinările viscerale folosind denumirea de „eritem exsudativ multiform". Descrierile clinice de mai tîrziu (Keefer şi Felty, 1924; Goekerman, 1927) capătă o semnificaţie caracteristică numai după ce Gross şi Klemperer (1940—1948) precizează unitatea bolii, descriind leziunile morfologice caracteristice, degenerescenţa eozinofilă şi degenerescenţa bazofilă cu formarea de corpi hematoxilinici. Aceşti autori încadrează în endocardita lupică şi endocardita abacteriană descrisă anterior de Liebmann şi Sachs (1924), caracterizată prin leziuni valvulare şi parietale verucoase. În jur de 1950 se conturează perioada morfologică a bolilor de colagen, care, sub influenţa lui Klemperer, se generalizează la toate afecţiunile cu leziuni viscerale de degenerescenţă şi necroză fibrinoidă. Leziunea de „wire loop" (ansă de sîrmă), cu îngroşarea anselor glomerulare, a fost considerată ca o leziune patognomonică pentru boala lupică, deşi azi se recunoaşte că este o leziune de membrană bazală întîlnită în multe nefropatii din bolile imunologice.

Puţin înainte de 1950 începe perioada de cercetări imunologice, care precizează diagnosticul serologic şi morfologic al bolii lupice, şi încep cercetări experimentale pentru reproducerea sa (Hardgraves, 1948, 1952; Miescher, 1955—1960). Cam în aceeaşi perioadă se descriu modificările serologice imune nespecifice, ca reacţia Wasserman fals pozitivă, hipergamaglobulinemia şi prezenţa unor izoanticorpi (Callender şi Race, 1946).

Descrierea bolii lupice spontane la şoarecele NZB (Holyer şi Howie, 1963; Mellors şi colab., 1969), mult discutată de Burnet ca mecanism autoimun genetic, precum şi descoperirea factorului antinuclear, scăderea complementului seric şi depistarea sa în leziunile „wire-loop" au conturat caracterul de boală autoimună a LED înainte de 1970.

Simptomatologia clinică atrage atenţia prin cîteva grupe de simptome importante care, bine observate de la început, ne pun pe calea diagnosticului: *febra* neregulată şi moderată, în afară de cazurile severe cînd poate să aibă caracter septic hiperpiretic; *dureri articulare* difuze şi puţin

caracteristice la care se adaugă *inflamaţia exsudativă a seroaselor pleuro-pericardice*; *simptomele cutanate* cu roşeaţă a feţii, cu caracter simetric de „fluture", sînt simptomele cele mai obişnuite care caracterizează lupusul încă nevisceralizat; *semnele de nefropatie glomerulară*, cu hematurie şi albuminurie, atingerea cordului şi uneori atingerea polimorfă a creierului sînt caracteristice pentru perioada de visceralizare.

Splenomegalia şi adenomegalia, uneori de dimensiuni mari, pot să deruteze diagnosticul spre boli limfoide proliferative maligne, mai ales boala Hodgkin sau adenopatii cu leziuni de graniţă de tip angioimunoblastic. În multe cazuri cu asemenea leziuni limfoide, *atingerea articulară* sau a altor seroase, precum şi *cea renală* sugerează diagnosticul de boală lupică. În tabelul nr. 14 redăm frecvenţa diferitelor manifestări clinice.

Nestor (1979), în Spitalul clinic Fundeni, constată următoarea frecvenţă a semnelor clinice în boala lupică: (*a*) determinări cutanate — 60 bolnavi (3 bolnavi cu lupus discoid) 93,8 %; (*b*) determinări articulare — 51 bolnavi (1 bolnav de necroză aseptică a capului femural postcorticoterapie) 79,6 %; (*c*) determinări renale — 42 bolnavi 65,5 %; (*d*) determinări seroase — 20 bolnavi 31,25 %: (*e*) determinări hepatice — 8 bolnavi 12,5 %; (*f*) determinări cardiace — 7 bolnavi 10,9 %; (*g*) determinări ganglionare — 9 bolnavi 14 %; (*h*) determinări cerebrale — 2 bolnavi 3,1 %; (*i*) determinări hematologice — 4 bolnavi 6,2 %.

Într-un caz urmărit de noi (Berceanu şi colab., 1958), simptomatologia şi evoluţia au fost foarte derutante: recidive de tromboflebită, apoi de pericardită şi insuficienţă cardiacă timp de aproape 2 ani, după care episod febril grav cu leziuni ulcerative oculare şi labiale ca în sindromul Behçet, la care s-a asociat monoplegie superioară stîngă şi apoi hemiplegie. Diagnosticul biologic a confirmat cu certitudine acest caz de boală lupică cu simptomatologie foarte polimorfă.

Investigaţiile imunoserologice şi importanţa lor în diagnostic şi patogenie. Testele curente de laborator arată unele modificări care ne pot sugera boala lupică fără să fie specifice.

Sîngele periferic poate să arate un grad variat de anemie, însă la 5—10 % din cazuri (Miescher, 1976) anemia este hemolitică autoimună cu test Coombs pozitiv, cu ser antigama şi ser anticomplement. Există cazuri în care hemoliza acută poate constitui debutul bolii lupice. În alte cazuri, anemia hemolitică este un sindrom asociat, o complicaţie care poate să apară brutal în recidive. În multe cazuri de hemoliză acută cu anticorpi complecşi, uneori cu panaglutinine, există scăderi pînă la 3 g hemoglobină care determină o gravitate externă.

Celelalte elemente sanguine periferice pot fi normale sau cu unele modificări cantitative care ţin şi de terapia prelungită cu cortizon sau cu imunosupresive. Leucocitele pot să fie crescute la început, însă de cele mai multe ori există o leucopenie moderată sau severă pînă la 2 000 de leucocite, uneori şi cu limfopenie. Trombocitopenia se întîlneşte cam la jumătate din cazuri, însă simptomele purpurice sînt rare. La femeile tinere, noi suspectăm totdeauna PTI ca semn sau complicaţie de boală lupică. Cercetările imunologice pot să pună în evidenţă anticorpi aglutinanţi antitrombocitari şi antileucocitari şi uneori chiar factori limfocitotoxici.

Tabelul nr. 14

Frecvența manifestărilor clinice (%) în boala lupică după diferiți autori (după Miescher, 1976)

	Bellevue Medical Center 127 cazuri	Harvey și colab. 105 cazuri	Dubois 520 cazuri	Jessar și colab. 44 cazuri	Shearn și Pirofsky 34cazuri
1. Simptome generale :					
pierdere de greutate	60	71	51,3	100	74
febră	97	86	83,6	95	100
2. Piele :					
toate formele	72	85	71,5	68	91
erupție în fluture	40	39	56,7	—	—
erupție discoidă	16	—	—	—	—
urticarie	16	—	—	—	—
erupție buloasă	6	—	6,9	—	—
purpură	12	9	19,8	—	15
erupție după expunere la lumina solară	22	11	32,7	—	58
membrane mucoase	—	14	9,1	18	—
unghii	9	—	—	—	—
3. Articulații :					
toate formele	81	90	91,9	77	86
artrite tranzitorii	40	—	—	—	—
artrită cronică fără deformări	20	—	—	—	—
artrită cronică cu deformări	20	27	26,3	—	12
4. Rinichi :					
toate formele	61	65	46,1	70	62
nefrită	55	—	—	—	—
nefroză	6	—	23,0	—	—
afectarea rinichiului cu hipertensiune	15	14	—	18	32
uremie	—	11	18,0	—	—
5. Inimă :					
toate formele	54	52	—	70	—
tahicardie	54	—	—	—	—
cardiomegalie	30	15	15,7	34	—
auscultație patologică	32	44	21,3	55	71
insuficiență cardiacă congestivă	10	8	5,0	—	21
electrocardiogramă patologică	56	—	35,1	—	—
6. Membrane seroase :					
toate formele	56	—	—	—	—
pericardită	15	45	30,5	23	18
pleurezie	39	57	45,0	39	24
peritonită	13	0	11,3	—	15
7. Pulmoni :					
infiltrații atipice	15	22	0,9	20	—
8. Ficat :					
hepatomegalie	35	32	23,2	29	44
icter	6	3	3,8	—	12
9. Splină :					
splenomegalie	21	15	9,0	27	41
10. Ganglioni limfatici :					
adenopatii	48	58	58,6	37	68
11. Tract gastro-intestinal :					
toate formele	25	10	53,2	22	35
12. Glandă tiroidă :					
hipertrofie	3	—	—	—	—

	Bellevue Medical Center 127 cazuri	Harvey și colab. 105 cazuri	Dubois 520 cazuri	Jessar și colab. 44 cazuri	Shearn și Pirofsky 34 cazuri
13. Glandă parotidă : hipertrofie	5	—	—	—	—
14. Vase sanguine periferice :					
toate formele	20	—	—	—	—
sindrom Raynaud	15	10	18,4	16	6
tromboflebită	16	—	—	—	—
15. Sistem nervos central :					
toate formele	44	—	25,5	—	—
psihoze	22.5	19	12,1	9	—
convulsii	10	17	13,8	7	15
16. Sistem nervos periferic : toate formele	14	—	11,7	—	—
17. Ochi :					
toate formele	15	30		20	28
,,corpi citoizi''	8	25	9,6	—	—
alterări caracteristice hipertensiuni	5				
leziuni hemoragice	—	—	10,5	—	—
conjunctivită	14	5	10,3	—	—

În măduvă nu sînt modificări speciale : doar reacții eritroblastice sau megacarioblastice în formele cu hemoliză și trombocitopenie. Sînt însă aproape constante modificările de reacție imună cu infiltrate difuze sau în cuiburi de limfoplasmocite (Berceanu și colab., 1956), precum și unele leziuni celulare cu formare de corpi hematoxilinici; unele arteriole și sinusuri prezintă pereți îngroșați cu depunere de material PAS-pozitiv și cu dispoziție de plasmocite, limfocite și mastocite în jur.

Modificările plasmatice atrag atenția, deși pot fi comune altor boli de colagen : hipergamaglobulinemie, hiper-alfa$_2$-globulinemie ; mai caracteristică este scăderea de beta$_1$-C-globulină care la testele specifice apare ca scădere a complementului total (Bruckner și colab., 1959), în special a fracțiunii C3 (Gologan și Berceanu, 1978 ; Berceanu și Gologan, 1979). Există însă și cazuri rare cu hipogamaglobulinemie și unele modificări de disglobulinemie cu semnificație de deficit imun bazal. Ca în orice disglobulinemie cu hipergamaglobulinemie sau hiper-alfa$_2$ și creșteri de fibrinogen pînă la 10g‰ există un VSH mare (60—100 mm/oră) în perioada de evoluție, în special în formele visceralizate. Concomitent sînt prezente testele pozitive de disproteinemie, timol, sulfat de Zn etc. Creșterile mari de gamaglobuline prin imunoelectroforeză apar ca policlonale pentru toate clasele de Ig.

Alte modificări plasmatice care atrag atenția sînt mai întîi reacțiile fals pozitive pentru sifilis, reacția Wasserman apărînd la 40 % din cazurile evolutive și la 20 % din cele latente. Anticorpii față de antigenele nespecifice cardiolipidice se întîlnesc în titru mic și la unele persoane normale și nu au altă semnificație patogenică în boala lupică, decît ca semn de

dereglare imună. Celelalte teste specifice pentru lues sînt negative. Prezența reacției Wasserman pozitivă la o persoană cu semne încă incerte va fi luată în considerare pentru evoluția spre boala lupică.

Apar de asemenea anticorpi față de anumite autoantigene de organe. Am semnalat anticorpii antieritrocitari, care în unele statistici se găsesc la 65% din cazuri prin testul Coombs sau aglutinine la rece, fără a exista însă semne de hemoliză. După Dacie și Worlledge (1969), apar anticorpi la cald în 8% din cazuri cu LED. În statistica noastră, din 100 de cazuri de AHAI, 27 au fost prin boală lupică (Gologan și Berceanu, 1979). Într-o statistică mai veche de la Institutul de medicină internă, într-un studiu făcut cu Maria Gheorghiu (1965), testul Coombs pozitiv s-a găsit la 83% cazuri de boală lupică. Am semnalat mai sus frecvența anticorpilor antiplachetari și antigranulocitari; de semnificație deosebită sînt anticorpii antilimfocit T, care pot explica limfopenia ca dereglare imună celulară cu deosebită semnificație (Lies și colab., 1973).

Importantă este prezența de anticoagulanți circulanți, care pot declanșa fenomene hemoragice generale sau locale. Sînt în genere de tip antitrombină și antitromboplastină, asociindu-se frecvent cu testele fals pozitive pentru lues și cu trombocitopeniile, ceea ce denotă prezența unui anticorp crossreactant cu structurile fosfolipidice care se găsesc în factorii coagulanți și în antigenul cardiolipidic pentru reacția Wasserman (Jones, 1977). În unele cazuri însă, există un factor anticoagulant cu acțiune specifică pentru factorul VIII (Shapiro, 1967).

Teste imunologice specifice și semnificația lor. Ceea ce caracterizează boala lupică ca boală autoimună sînt cîteva teste specifice: (*1*) prezența de anticorpi față de structurile nucleului cu componentele DNA, RNA DNA-histone, nucleoproteine; (*2*) prezența de CI cu anticorpi antinucleari, antigene nucleare și complement; (*3*) scăderea C plasmatic; (*4*) prezența de depozite bogate de CI și de fibrină în leziunile specifice de colagen și în special în leziunile glomerulare.

Asocierea de autoanticorpi anticitoplasmă sau față de tireoglobulină ori IgG (FR) denotă alterarea profundă a imunității în lupus, însă nu sînt caracteristice pentru diagnostic.

Anticorpii antinucleari se pun în evidență prin testul devenit clasic, fenomenul Hardgraves de formare a celulelor lupice și a rozetelor (Berceanu, 1968; Purice, 1975). Celulele lupice apar prin acțiunea anticorpilor față de structurile nucleare și anume față de complexele nucleoproteinice din toate celulele organismului. Fenomenul se produce *in vitro* prin acțiunea anticorpilor plasmatici cu fixare de C pe antigenele nucleolului care se omogenizează prin alterarea cromatinei ca substrat morfologic al DNA-proteinelor. Nucleul, cu o formă ovală omogenă (fig. 30), este înconjurat de granulocite în fenomenul de rozetă și apoi fagocitat de granulocite, mai rar de monocite și foarte rar de eozinofile sau bazofile. Se cunosc metodele curente de provocare a fenomenului prin incubarea sîngelui în condiții de coagulare slabă, prin heparină sau defibrinare. Membrana nucleară este acoperită cu Ig anticorpi și C din circulație. Factorul plasmatic este factorul antinuclear (FAN), ca anticorp specific față de struc-

turile nucleoproteinice şi care se evidenţiază şi prin metodele de fixare a C (Berceanu şi colab., 1958), precum şi prin teste de hemaglutinare pasivă şi de consupţie a antiglobulinei FAN este o IgG şi mai rar IgM.

Metoda curentă de punere în evidenţă a FAN este imunofluorescenţa cu ser anti-IgG efectuată pe frotiuri de granulocite sau alte celule, precum şi pe secţiuni la criostat de organe cu nuclei foarte evidenţi. Apare prezent la 90—100% din bolnavii cu boală activă, diminuă pînă la dispariţie în remisiune şi reapare în recăderi.

Cercetările din ultimii ani au arătat mai multe aspecte de depunere a anticorpilor antinucleari pe nucleul celulelor, ceea ce denotă existenţa mai multor fracţiuni anticorpice antinucleare diferite. Se descriu astfel, după dispoziţia imunofluorescenţei, un aspect periferic în „inel" pe membrana nucleară, un aspect de „pete" cu granule fluorescente peste nucleu şi o dispoziţie cu aspect difuz, în care tot nucleul apare omogen imunfluorescent.

Se consideră că dispoziţia difuză omogenă este dată de anticorpii anti-histone, pe cînd dispoziţia periferică în inel o dă anticorpii faţă de DNA nativ dublu catenar (Rothfield şi Stabler, 1965). Dispoziţia pătată este caracteristică anticorpilor faţă de complexele RNA-proteine. Aceşti anticorpi pot uneori să se fixeze numai pe nucleoli şi în alte colagenoze pot să apară FAN care dau coloraţie nucleolară (scleroza sistemică) sau aspectul în „pete" (boala mixtă a ţesutului conjunctiv).

Din datele recente ale lui Jonnes (1977), prin metoda RIA a lui Farr se pot recunoaşte 4 tipuri de anticorpi faţă de structurile antigenice nucleare: (*1*) anticorpi activi numai cu DNA denaturat monocatenar; (*2*) anticorpi activi pentru ambele forme de DNA, nativ şi denaturat, dar mai ales pentru cel din urmă; (*3*) anticorpi egali pentru ambele forme de DNA; (*4*) anticorpi activi predominant pe DNA nativ.

În cele mai multe cazuri apare tipul 3, însă în unele cazuri se găsesc toate 4 tipurile. Autorul conchide că anticorpii faţă de DNA bicatenar sînt caracteristici LED clasic, pe cînd cei pentru DNA monocatenar se găsesc în LED secundar drogurilor. Anticorpii faţă de RNA şi faţă de nucleohistone sînt caracteristici de asemenea bolii lupice, însă corelează mai puţin cu activitatea sa. În unele cazuri de lupus discoid apar anticorpi anti-DNA cu semnificaţie de evolutivitate.

Pentru precizarea acestor tipuri de anticorpi sînt necesare metode speciale de separare pe membrană de nitroceluloză pentru DNA monocatenar sau utilizarea pentru imunofluorescenţă a unui flagelat, *Cristhidia luciliae*, care are un organit keratoplastic ce conţine numai DNA bicatenar.

Unele încercări de a preciza natura anticorpilor s-au făcut şi din compararea aspectului celulelor lupice. Unele sînt intens şi omogen colorate, dar mai puţin fagocitate, pe cînd altele bine fagocitate sînt mai puţin omogene cu o tentă variabilă. Diferenţele ar fi rezultanta acţiunii unor autoanticorpi variaţi; diferenţele însă pot să ţină şi de intensitatea adeziunii anticorpilor pe membranele nucleare şi de pătrundere a lor înăuntrul nucleului, producînd modificări inegale în structura şi deci în colorabilitatea cromatinei. De aceea, cu unele aspecte variate, celulele lupice

pot să apară la 5—8% din boala reumatoidă și în unele cazuri de sclerodermie, de dermatomiozită și de hepatită agresivă, în genere numai cu anticorpi anti-DNA bicatenar.

Anticorpii față de antigenele citoplasmice sînt polimorfi: pentru ribosomi, mitocondrii, lizosomi și alte fracțiuni ale citoplasmei; apar nespecifici în multe stări patologice, precum și la alte specii de animale. În boala lupică prin imunfluorescență se găsesc la 50% din cazuri, 20% fiind antimitocondriali; ca structură moleculară sînt 19S și 7S, iar cei față de ribosomi sînt anti-RNA.

Din alte modificări imunoserologice unele se leagă de patogenia, evoluția și diagnosticul bolii lupice, altele sînt nespecifice. Dintre primele sînt CI circulante, în multe cazuri sub formă de crioglobuline cu scădere de C. *Crioglobulinele* sînt de obicei mixte conținînd FR, complement, precum și FAN, și avînd o deosebită importanță în producerea leziunilor.

Ca modificări nespecifice, pe lîngă anticorpii anticitoplasmatici, se mai găsește FR la 1/3 din cazuri, care apare liber sau legat în crioprecipitate. Prezența sa semnifică o alterare imunogenetică, care poate sau nu să ducă la boala lupică (Bloch, 1976).

S-au mai descris și anticorpi față de alte antigene nucleare, ca anticorpii antihistonă, și anticorpii față de un antigen extractibil numit antigen Sm, conținînd carbohidrați și proteine; față de aceștia apar anticorpi la 75% din cazuri.

Toată această complexitate de anticorpi față de structurile celulare arată profunda alterare imună din boala lupică cu pierderea toleranței imune față de foarte multe antigene specifice de organ, în majoritatea nespecifice de specie. Pe lîngă anticorpii pentru structurile nucleo-citoplasmatice, Steffen (1965), printr-o metodă proprie, a descris anticorpi anticolagen, frecvenți mai ales în bolile reumatismale, dar și în boala lupică. S-au descris recent anticorpi organospecifici față de rinichi, față de țesutul articular și anticorpi fixatori de complement cu diverse țesuturi ca cei descriși de Gaydussek în majoritatea bolilor autoimune însă fără nici o specificitate (Berceanu, 1968).

Tulburările de imunitate celulară, deși teoretic ar trebui să existe ca factori de dereglare complexă a toleranței imune, nu se cercetează curent în clinică ca metodă de diagnostic. Încercările de a testa hipersensibilizarea tardivă prin injecții intradermice de leucocite autologe sau omologe au dat mai ales reacții imediate tip fenomen Arthus prin CI cu material anticorpic eluat.

Reacțiile cutanate pot însă persista pînă la 24 de ore, ceea ce arată și un mecanism de hipersensibilizare tardivă, așa cum par să arate unele intradermoreacții cu histonă și DNA.

Încercări de testare a imunității celulare *in vitro* prin transformarea blastică a limfocitelor bolnavului în prezența antigenelor nucleare, ca DNA nativ sau modificat, par să fi dat unele rezultate pozitive. S-a arătat în plus că există în multe cazuri, ca și în PCE, o scădere a numărului de limfocite T circulante (Jackson și colab., 1979), precum și un deficit imun în testele de transformare blastică (Rosenthal și colab., 1975; Utsinger, 1976). S-au găsit apoi scăderi de timozină circulantă și modificări în relația limfocit Th — limfocit Ts (Horovitz și colab., 1977; Jackson și colab., 1979). În ultimii ani s-a încercat să se facă o corelație între scăderea imuni-

tății celulare de tip T, scăderea de timozină și scăderea de C4, ca factori favorizanți ai infecțiilor și persistenței de particule virale care se găsesc în leziunile lupice (Schutz, 1975; Beauclair și colab., 1977; Pavern și colab., 1976; Schaller și colab., 1977; Hill și colab., 1978).

Deficitul imun de tip T apare ca un factor genetic foarte important, poate combinat cu deficitul de complement (factorul C4), în așa-zisa diateză lupică care poate să ducă la boala lupică tipică sau alte tulburări imune sau autoimune, inclusiv cu alterări în sistemul gama, cum s-a dovedit recent (Jackson și colab., 1979; Miller și colab., 1979). O semnificație încă neclară este prezența de interferon în serul bolnavilor lupici care apare la 75% din cei cu boala activă, variind paralel cu anticorpii anti-DNA și invers cu titrul de C3 (Haaks și colab., 1979); interferonul s-a găsit și în PCE și în sindromul Sjögren, fiind incriminată o anumită relație cu infecția virală sau mai degrabă cu limfocitele sensibilizate ca răspuns la antigene și la CI (Skudkovich și colab., 1975; Baron și colab., 1977), (v. cap. III, E).

Caracterele imunohistochimice ale leziunilor din LED. Caracterul de boală de colagen este determinat de degenerescența și necroza fibrinoidă, însoțite de reacții inflamatorii și degenerative în țesuturile vasculo-colagene unde se depun CI. Dacă primii cercetători au descris leziunile de degenerescență eozinofilică și de degenerescență bazofilică cu corpi hematoxilinici, analize cu metode complexe electronice, imunochimice, histo- și citochimice, absorbție și ultraviolete, au precizat natura leziunilor și factorii care le produc, astfel că se pot distinge: (*1*) Depunere de CI în care se disting Ig anticorpi fracțiuni de C și properdină, autoanticorpi, concomitent cu antigenele DNA, baze pirimidinice și substanța fibrinoidă, eozinofilică PAS-pozitivă; în aceasta se pot distinge fibrina și fibrinogenul la colorații specifice și prin imunfluorescență cu antiseruri specifice, precum și nucleoproteină prin reacția Feulgen. Se adaugă produse de alterare a fibrinogenului, a fibrinei și a substanței fundamentale de colagen, mucopolizaharide acide. Acestea din urmă au fost descrise inițial ca material fibrinoid prin degenerescența colagenului. (*2*) La depunerile de CI și reacții degenerative se adaugă reacțiile inflamatorii cu polimorfonucleare, proliferări endoteliale și epiteliale în glomeruli și în vase cu exsudat fibrinos prin activarea coagulării prin reacții histiocitare fibroblastice și fibrocitare și chiar cu celule gigante. (*3*) Aglomerările inflamatorii și trombozele vasculare duc la necroză în glomeruli și vase, în derm și hipoderm, în interstițiile pulmonare, în seroase, în endocard și valve. Pe lîngă degenerescența eozinofilă PAS-pozitivă, apare o degenerescență bazofilă prin infiltrația de material cromatinian degenerat, precum și prin aglomerare de corpi hematoxilinici (fig. 31).

Dacă procesul general al leziunilor este asemănător în toate țesuturile afectate, există totuși leziuni caracteristice în rinichi, în miocard și în splină, care deși nu mai sînt considerate patognomonice, își păstrează o importanță deosebită pentru diagnostic, mai ales prin analizele imunochimice de punere în evidență a anticorpilor specifici față de materialul nuclear.

După cercetările recente (Baldwin şi colab., 1977; Hill şi colab., 1978), glomerulonefrita lupică este caracterizată prin leziuni de boală prin CI, avînd la microscopul optic caractere de glomerulită membranoasă, proliferativă, membrano-proliferativă şi cu depozite semilunare sau fără acestea. Au fost distinse 5 clase de gravitate, după intensitatea depunerii complexelor în mezangium şi subendotelial. Cele 5 tipuri de leziuni corelează cu gravitatea bolii şi cu CI circulante. Concentraţiile de CI cu DNA determină depunerile iniţiale în mezangium, apoi subendotelial, şi în mezangium şi subepitelial. Glomerulita membranoasă prin depunerea subendotelială pe membrana bazală determină leziunile de „wire loop". Depunerile în mezangium se pot produce cu şi fără scădere de complement. Acesta scade în circulaţie cînd cresc complexele anti-DNA şi apar crioglobulinele. Scăderile de C seric se însoţesc însă totdeauna de leziuni proliferative. Leziunile simple de membrană, care uneori nu se văd la microscopul optic, coincid cu depuneri sărace de complexe fără scăderi de complement şi fără proliferări sau reacţii inflamatorii (Germuth şi Rodriguez, 1973). O corelaţie clinică mai simplă se poate face pe baza biopsiei renale, după aspectul clasic al leziunilor optice: (*1*) leziuni renale uşoare de nefrită în focar, fără alte semne clinice în afară de hematurie şi albuminurie reduse; (*2*) glomerulită membranoasă, în genere cu aspect de „wire loop", care determină sindromul nefrotic reversibil; (*3*) nefrita lupică difuză membrano-proliferativă, concomitent cu leziuni inflamatorii trombozante, sclerozante, care condiţionează un sindrom nefrotic sever cu evoluţie spre insuficienţă renală.

Cercetări prin eluţia ţesutului renal au pus în evidenţă fracţiunile din CI care corespund leziunilor de imunfluorescenţă şi microscopie electronică. Cel mai frecvent se eluează IgG, rar IgM şi foarte rar IgA (Miescher, 1976); se evidenţiază apoi anticorpi antinucleoproteină, anti-DNA nativ, anti-ADN monocatenar, antiribonucleoproteine, precum şi anti-baze pirimidinice. FR, care apare în circulaţie şi în crioprecipitate, s-a izolat de asemenea şi din leziuni.

În splină, chiar dacă nu este hipertrofiată, se găsesc infiltraţii inflamatorii difuze în jurul foliculilor şi al tecilor limfatice, cu plasmocite şi limfocite hiperbazofile în care s-au decelat IgG şi IgM. Leziunea caracteristică, dar nu patognomonică deoarece s-a găsit şi în PTI, AHAI etc. (Berceanu şi colab., 1960, 1975), constă din îngroşarea pereţilor arteriolelor centrofoliculare, determinînd leziunile de „bulb de ceapă" prin depunere de material imun între straturile pereţilor arteriolari (fig. 32) (Svek şi Allen, 1970; Paranetto şi Vernace, 1975).

Leziunile cardiace, descrise ca endocardită Liebman-Sachs (Bächer, 1933), sînt organizate pe valvele atrioventriculare, cordaje şi destul de frecvent pe pereţii endocardici. Se caracterizează mai ales prin leziuni de degenerescenţă fibrinoidă, cu necroză, trombuşi, infiltraţii de granulocite, limfocite, plasmocite, histiocite şi numeroşi corpi hematoxilinici. Leziunile de endocard au fost considerate caracteristice de către Klemperer şi Gross, prin degenerescenţa acidofilă şi bazofilă.

La microscopul electronic s-au găsit formaţiuni tubulare cu caracter de virus. Recent, se consideră că un deficit imun celular favorizează persistenţa acestor formaţiuni virale, atestate de mulţi autori (Hill şi colab., 1978; Miller şi Schultz, 1978; Jackson şi colab., 1979). În genere au di-

mensiuni de 230—1 000 Å, în aglomerări de tubi cu diametrul de 60Å ; se localizează în citoplasmă, perinuclear sau în cutele reticulului endoplasmic, în majoritatea celulelor din ţesuturile afectate de boala lupică sau în afara lor, ca în endoteliul glomerular, în mezangium, în piele, în muşchi, în limfocitele circulante.

Sinteză asupra mecanismului dereglărilor imune din boala lupică. Leziunile morfopatologice, dereglările imunoserologice, simptomatologia şi evoluţia bolii lupice, coroborate cu unele cercetări de epidemiologie genetică, constituie elemente pentru o sinteză asupra cauzelor şi înlănţuirii factorilor care condiţionează etiopatogenia bolii lupice ca boală a dereglării profunde a imunităţii. În 1968 şi în alte lucrări ulterioare am susţinut ipoteza că boala lupică este cea mai caracteristică boală cu autoîntreţinere ca boală autoimună prin deficit imun. Comparînd schema noastră din 1968 cu schema actuală, se constată că în cea veche apărea o determinare genetică care în ipoteza lui Burnet consta dintr-un deficit al clonelor interzise. Pe acest fond labil imun intervine un factor declanşator variat (infecţii, ultraviolete, arsuri), care ar leza iniţial structurile nucleare.

În monografia din 1968 am citat lucrările mai importante pentru a se putea elabora o ipoteză patogenică de boală autoimună cu incidenţă familială pe baza unei dereglări imune variate. După 10 ani, concepţia generală nu s-a modificat, dar s-a completat cu date noi asupra predispoziţiei genetice şi asupra antigenelor exogene persistente în organism, care pot să determine şi să întreţină starea de hipersensibilizare pe un fond de deficit imun.

Lucrările recente ale lui Reinertsen (1978) identifică în boala lupică limfocite B cu aloantigene detectate prin seruri de multipare, antigene denumite Ia-715 la 75,6% din cazuri şi numai de 14,1% la martori. Prin seruri anti-HLA se identifică 46,4% limfocite B de tipul HLA-DRw3 şi 57,1% de tip HLA-DRw2.

Alte lucrări anterioare dovedesc o relaţie între boala lupică şi antigenele HLA-A şi HLA-B, cu o predispoziţie individuală determinate de alte gene linked (Sasazuki şi colab., 1974 ; Kissmayer-Nielson şi colab., 1975 ; Distol şi colab., 1977 ; Cheland şi colab., 1978). O implicaţie a genelor linked de HLA, şi anume cele ce determină antigenele DRw2, condiţionează un deficit de C2 care constituie un factor de deficit imun semnalat recent ca asociat bolii lupice (Fu şi colab., 1975 ; Glas şi colab., 1976). Se afirmă astfel ipoteza deficitului general imun din boala lupică, susţinut de noi în 1968.

S-a arătat în plus că gena DRw3 asociată la HLA determină un răspuns anormal faţă de antigenele microbiene şi unele virusuri, condiţionînd şi o stare de hipersensibilizare (Grumet, 1977). Este dovedit astfel că în modelul nou de boală lupică există mai multe gene determinante, ca, în orice răspuns imun faţă de antigenele cu structură complexă (Kölsch şi colab., 1976 ; Ravedie şi colab., 1978). O relaţie cu limfocitele B HLA-DRw3 s-a găsit şi în sindromul Sjögren.

Scăderea complementului apare astfel în boala lupică nu numai ca un element de diagnostic, dar şi ca un factor patogenic care, alături de deficitul T, favorizează persistenţa particulelor virale (Schutz, 1975 ; Welsh, 1975 ; Beauchais şi colab., 1977 ; Leddy şi colab., 1977).

Foarte recent, Miller și Schwartz (1979) arată că boala lupică apare la 70% din gemenii univitelini, iar anticorpii antinucleari apar la o treime din rudele de gradul I ale unui bolnav (Block și colab., 1975). Determinarea genetică este dependentă de două gene legate din sistemul HLA, una activă în reglarea globală a SI, iar alta activă pe ramura celulară (Cleland și colab., 1978; Quinley și Schutz, 1978). Șoarecele NZB face boala lupică numai la hibrizii F_1 la care apar 3 gene determinante (Knight și colab., 1978). Miller și Schwartz arată o scădere evidentă a funcției Ts la 11 din 14 bolnavi cu boală lupică, precum și la 13 din 50 de rude ale bolnavilor, din care 12 erau femei. Deși autori ca Fauci și colab. (1978) nu găsesc o relație între evoluția bolii și intensitatea disfuncției Ts, există alte lucrări care confirmă aceasta (Horwitz și Cousar, 1975; Sakane și colab., 1978).

Fără a explica predominanța la femei, autorii arată că mamele bolnavilor și foarte rar tații au anomalii imune, fie în funcția T, fie prin prezența de FAN în ser. Autorii nu conchid că deficitul de Ts este o cauză a bolii lupice, ci îl consideră un martor al dereglării imune centrale.

După date recente, tabloul patogenic al bolii lupice poate fi completat față de datele noastre din 1968. Noua schemă constată că există o alterare genetică în genele linked DRW2, care afectează răspunsul imun pe două căi: (*1*) deficit de factori ai complementului (C3 și C4), care diminuă eliminarea antigenelor virale și a altor antigene ce vor întreține starea de hipersensibilizare; (*2*) hipersensibilizarea cu efect asupra clonelor B (suprimate sau în deleție) pentru antigenele proprii, la care se adaugă un deficit de Ts fac ca aceste clone să devină active și să producă anticorpi față de structurile acizilor nucleici. Mai departe, continuă lanțul patogenic, cu formare de autoanticorpi, CI în circulație, fixare de C3 și depunere în țesuturi.

Nu se știe de ce dereglarea imună genetică face să se activeze clonele B specifice față de antigenele nucleare. Poate că inițial ar exista o crossreacție cu antigenele virale sau poate că alți factori fac să se degradeze acizii nucleici și antigenele tolerogene să depășească o anumită concentrație. Pe această cale s-ar instala la persoane cu tară genetică leziunea lupică după expunerea la soare, raze ultraviolete, după arsuri, sarcină sau expunerea la unele substanțe chimice ca hidrazinoftalazina.

Lucrările experimentale nu au putut reproduce boala lupică. Încercările lui Miescher (1960) cu producere de FAN prin hipersensibilizare cu antigene de *Brucella* nu au reprodus boala lupică; experiențele sale, ca și ale lui Christian și Abruzzo (1965), arată numai posibilitatea reproducerii FAN și FR în stări de hiperimunizare. N. Gh. Lupu, într-o perioadă cînd cunoștințele despre boala lupică erau la început, susținea că boala lupică, ca și alte boli de colagen, sînt forme clinice polimorfe de boli cronice infecțioase și în special de bruceloză.

Principiile de terapie în boala lupică trebuie să se lege de factorii pe care îi considerăm patogenici pentru predispoziția la boală și pentru declanșarea și evoluția sa.

Factorul genetic nu poate fi modificat, dar o profilaxie pentru anumiți factori declanșatori la femeile tinere din familiile bolnavilor sînt posibile. Cercetările de boală subclinică ar trebui extinse la toți colateralii și descendenții, încercîndu-se să se prevină infecțiile cronice, expunerea

Foarte recent, Miller şi Schwartz (1979) arată că boala lupică apare la 70% din gemenii univitelini, iar anticorpii antinucleari apar la o treime din rudele de gradul I ale unui bolnav (Block şi colab., 1975). Determinarea genetică este dependentă de două gene legate din sistemul HLA, una activă în reglarea globală a SI, iar alta activă pe ramura celulară (Cleland şi colab., 1978; Quinley şi Schutz, 1978). Şoarecele NZB face boala lupică numai la hibrizii F_1 la care apar 3 gene determinante (Knight şi colab., 1978). Miller şi Schwartz arată o scădere evidentă a funcţiei Ts la 11 din 14 bolnavi cu boală lupică, precum şi la 13 din 50 de rude ale bolnavilor, din care 12 erau femei. Deşi autori ca Fauci şi colab. (1978) nu găsesc o relaţie între evoluţia bolii şi intensitatea disfuncţiei Ts, există alte lucrări care confirmă aceasta (Horwitz şi Cousar, 1975; Sakane şi colab., 1978).

Fără a explica predominanţa la femei, autorii arată că mamele bolnavilor şi foarte rar taţii au anomalii imune, fie în funcţia T, fie prin prezenţa de FAN în ser. Autorii nu conchid că deficitul de Ts este o cauză a bolii lupice, ci îl consideră un martor al dereglării imune centrale.

După date recente, tabloul patogenic al bolii lupice poate fi completat faţă de datele noastre din 1968. Noua schemă constată că există o alterare genetică în genele linked DRW2, care afectează răspunsul imun pe două căi: (*1*) deficit de factori ai complementului (C3 şi C4), care diminuă eliminarea antigenelor virale şi a altor antigene ce vor întreţine starea de hipersensibilizare; (*2*) hipersensibilizarea cu efect asupra clonelor B (suprimate sau în deleţie) pentru antigenele proprii, la care se adaugă un deficit de Ts fac ca aceste clone să devină active şi să producă anticorpi faţă de structurile acizilor nucleici. Mai departe, continuă lanţul patogenic, cu formare de autoanticorpi, CI în circulaţie, fixare de C3 şi depunere în ţesuturi.

Nu se ştie de ce dereglarea imună genetică face să se activeze clonele B specifice faţă de antigenele nucleare. Poate că iniţial ar exista o cross-reacţie cu antigenele virale sau poate că alţi factori fac să se degradeze acizii nucleici şi antigenele tolerogene să depăşească o anumită concentraţie. Pe această cale s-ar instala la persoane cu tară genetică leziunea lupică după expunerea la soare, raze ultraviolete, după arsuri, sarcină sau expunerea la unele substanţe chimice ca hidrazinoftalazina.

Lucrările experimentale nu au putut reproduce boala lupică. Încercările lui Miescher (1960) cu producere de FAN prin hipersensibilizare cu antigene de *Brucella* nu au reprodus boala lupică; experienţele sale, ca şi ale lui Christian şi Abruzzo (1965), arată numai posibilitatea reproducerii FAN şi FR în stări de hiperimunizare. N. Gh. Lupu, într-o perioadă cînd cunoştinţele despre boala lupică erau la început, susţinea că boala lupică, ca şi alte boli de colagen, sînt forme clinice polimorfe de boli cronice infecţioase şi în special de bruceloză.

Principiile de terapie în boala lupică trebuie să se lege de factorii pe care îi considerăm patogenici pentru predispoziţia la boală şi pentru declanşarea şi evoluţia sa.

Factorul genetic nu poate fi modificat, dar o profilaxie pentru anumiţi factori declanşatori la femeile tinere din familiile bolnavilor sînt posibile. Cercetările de boală subclinică ar trebui extinse la toţi colateralii şi descendenţii, încercîndu-se să se prevină infecţiile cronice, expunerea

la anumiţi factori fizici, eliminarea anumitor droguri alergizante şi în genere a tuturor factorilor de hipersensibilizare. La membrii de familie cu hipo- sau disgamaglobulinemii este bine să se corecteze acestea, prevenindu-se infecţiile întrucît în boala lupică corectarea imună este foarte dificilă. Rămîne de văzut dacă în perioadele active cu leziuni vasculo-renale şi cu CI bogate în circulaţie nu ar fi utile plasmafareza şi exsanguino-transfuzia.

Terapia curentă cu prednison se adresează mai ales leziunilor inflamatorii şi mai puţin dereglărilor imune bazale, pe care dealtfel le poate accentua. Administrarea de imunodepresive, endoxan şi imuran, precum şi de antimalarice de sinteză, bine condusă pe perioade de luni sau ani, influenţează gravitatea bolii putînd să ducă la dispariţia celulelor lupice şi FAN. Nu se poate prevedea însă evoluţia formelor severe care termină cu insuficienţă cardiorenală şi uneori prin transformare în limfoproliferări maligne.

D. *Poliartrita cronică evolutivă*

Poliartrita cronică evolutivă (PCE) sau poliartrita reumatoidă (PR) este boala de colagen cea mai intens studiată clinic şi imunoserologic, dar mai puţin clară din punct de vedere etiopatogenic. Sînt destul de precizate însă mecanismele de producere a leziunilor articulare şi vasculare sistemice, care se datoresc CI circulante, FR, complementului (C), factori generaţi de aparatul imun sistemic sau chiar în articulaţie. Cum există multe lucrări asupra clinicii PR la noi în ţară (Ciobanu, 1966; Nestor, 1972), vom prezenta numai datele noi asupra dereglărilor imunoserologice şi celulare, încercînd să sistematizăm rolul lor în patogenia leziunilor şi a bolii în general.

1. *Reacţii serologice în PR*

Activitatea antiglobulinică include, în primul rînd, factorii reumatoizi (FR) şi o serie de alţi anticorpi anti-Ig care se găsesc în ser, fluidul articular şi ţesutul inflamator reumatoid. FR constituie o familie de anticorpi specifici pentru determinanţii antigenici de pe lanţul greu al IgG.

FR clasic, descris iniţial de Waaler (1939) şi decelabil în ser prin reacţia de aglutinare la 60–70% din PR, este de fapt o IgM cu specificitate anti-IgG. Specificitatea FR este complementară unor secvente de la nivelul regiunii Fc a IgG, care reprezintă determinanţi ai subclaselor şi tipurilor genetice Gm de pe domeniile C_H2 şi C_H3 ale moleculei (Natuig şi colab., 1972): Gm(a) „non-a" şi Gm(x) în domeniul C_H3 — şi Gm(g), Gm(b) şi Ga în domeniul C_H2 (v. cap. II, E1).

FR se combină *in vitro* cu IgG mai ales cînd aceasta este sub formă agregată sau denaturată (prin căldură, legare chimică cu un antigen), dînd naștere la reacții de aglutinare sau precipitare ; cu IgG nativă nu produce reacțiile respective, vizibile. Datorită ușurinței cu care se leagă de IgG denaturată, s-a crezut că FR apare ca o consecință a autosensibilizării față de IgG alterată în mediul inflamator (prin enzime, reacții antigen—anticorp, pH acid), aceasta explicînd oarecum și incidența crescută a PR în infecțiile cronice și la animalele hiperimunizate. De fapt, diferența aceasta de reactivitate constă în afinitatea crescută a autoanticorpului pentru IgG denaturată, polivalentă, astfel că formarea unei rețele de molecule de antigen și anticorp permite vizualizarea reacției (Maini și colab., 1977). Deci FR are specificitate, atît pentru molecula de IgG nativă, cît și pentru cea denaturată (Normansell, 1971).

Unele studii fizico-chimice recente (dicroism circular) au repus în discuție ipoteza că molecula modificată de IgG constituie stimulul pentru formarea de FR, modificarea fiind însă la nivelul structurii terțiare a IgG.

Dacă locusul de fixare al FR ar interesa domeniul CH_2, legarea FR ar trebui să interfere cu legarea C′, rezultînd complexe nefixatoare de C (Natuig, 1971). În condiții obișnuite însă, *in vitro*, FR fixează C′.

În afara FR clasic de tip IgM, au fost descrise molecule de FR de tip IgG, IgA și, recent, chiar IgD (Norberg, 1976 ; Winchester, 1970), nedecelabili prin reacțiile de aglutinare (latex, Waaler-Rose) și deci prezente și poliartritele seronegative (Hollingsworth, 1977). Cel mai frecvent apare FR de tip IgG care, posedînd loc de legare atît pentru antigen (Fab), cît și pentru anticorp (Fc), este capabil să agrege în dimeri foarte stabili, cu constanta de sedimentare 6S- 13S (Hollingsworth, 1977).

Ambele molecule de Ig din complex au activitate de FR și aspectul lor tridimensional ar fi ciclic datorită autoasocierii. Polimerizarea acestor compuși sub formă de deca- și dodecameri duce la apariția de molecule mari, solubile, implicate în geneza sindromului de hipervîscozitate. FR-IgG are aceeași reactivitate la nivelul Fc ca și FR-IgM ; de asemenea, fixează C′ *in vitro* și *in vivo*.

Sinteza FR aparține ganglionilor limfoizi sateliți articulației afectate, splinei și în principal țesutului limfoid ectopic din membrana sinovială afectată ; aceasta sintetizează mai mult de 1/3 din cantitatea de FR, egalînd, *in vitro*, capacitatea de sinteză a splinei. În sindromul Falty, însă, globulinele iau naștere mai ales în splină. În membrana sinovială, centrii germinativi formați aici *de novo* sînt răspunzători de secreția de antiglobuline FR. Proporția de plasmocite sinoviale producătoare de FR-IgG este de 50—90%, iar de FR-IgM de aproximativ 50—10% (Natiug, 1971), multe din aceste celule prezentînd o dublă fixare atît pentru IgG, cît și pentru IgM (de reținut că bolnavii la care se referă autorii fac parte dintr-un lot selectat de PR grave).

Rata de înlocuire a FR-IgG din sinovială este crescută, astfel că 1/3—1/2 din IgG a fluidului sinovial este înlocuită zilnic, sinteza de FR numai la nivelul articulației unui genunchi fiind de 5—100 mg/zi.

Cantitatea mare de FR din lichidul sinovial, comparativ cu cea serică, precum și prezența lui în cavitatea articulară, chiar în absența sa în ser, sugerează că articulația este sursa principală al FR în PR clasică.

Evidențierea FR. *În serul* pacienților pozitivi, FR se găsește sub formă de CI cu constanta de sedimentare 22S, formate dintr-o moleculă de FR-IgM și 5 de IgG (Hollingsworth, 1977; Normansell, 1970), la pacienții seropozitivi. FR-IgG circulă în complexe „solubile", intermediare, cu constanta de sedimentare 6,6—13S atît la PR seropozitivă, cît și la seronegativi (PPs, PS, SA).

În articulație (lichidul sinovial) apare atît sub formă liberă (Bonomo, 1970), cît și în fagocite. Spre deosebire de FR circulanți, CI formate în PS activează C', nivelul acestuia fiind invers proporțional cu cantitatea de CI; majoritatea FR din sinovie este de tip IgG (Winchester, 1970). Precipitate de CI cu FR se găsesc și în spațiile intercelulare din *țesutul inflamator sinovial* (Munthe, 1972), la PR atît seropozitivă, cît și seronegativă; aceste CI tisulare sînt „insolubile", cu dimensiuni mari, activatoare de C' pe calea clasică prin activarea Cl_2 (Winchester, 1970). Suprafața articulară a membranei sinoviale conține de asemenea cantități mari de CI, atît extracelular, cît și în celulele fagocitare (tip A, C) (Kinsella, 1970). Straturile profunde ale membranei sinoviale abundă în plasmocite în interiorul cărora se evidențiază PR (Natuig, 1971). Frecvent, eluatele de țesut sinovial (TS) manifestă activitatea de FR numai după tratament acid sau enzimatic care eliberează FR „ascunși", în complexele imune (Natuig, 1971; Winchester, 1970).

La fel în plasmocitele din exsudatul inflamator sinovial, FR este blocat în Cl IgG-anti-IgG.

Alte antiglobuline, în afara factorilor reumatoizi, descrise în FR sînt: (1) *aglutinatorii pepsinici*, autoanticorpi anti-Fab_2 din IgG autologă. Complexele respective, fixatoare de C', se găsesc în sinovia bolnavilor, sugerînd rolul lor patogenic local (Mellbye și colab., 1971). Sursa de antigen în acest caz ar fi IgG omologă, degradată de enzimele lizosomale chiar la pH neutru. Sînt descriși și autoanticorpi (Natiug și colab., 1973) cu specificitate pentru idiotipul moleculei de IgG (anticorpi anti-idiotip). (2) *Anticorpii anticolagen*, specifici față de fracțiunea solubilă a colagenului; apar în ser și sinovie, intracitoplasmatic sub formă de CI. Prezența lor nu este corelabilă cu evoluția bolii, cu seropozitivitatea sau cu apariția altor autoanticorpi. Recent s-a arătat o asemănare structurală între colagen și fracțiunea Clq, ceea ce pune sub semnul întrebării specificitatea atribuită anticorpilor „anticolagen". (3) *Anticorpii antiproteoglican* (componentă amorfă a matricei cartilajului) (Kriegel și colab., 1971) sînt fixatori de C' și, la fel cu anticorpii anticolagen, ar constitui o mărturie a degradării (dizolvării enzimatice) a cartilajului prin enzimele inflamatorii. (4) *Anticorpii anticondrocitari* sînt implicați în condrocitoliza articulară. (5) *Anticorpii antifibrinogen* ar fi rezultatul stimulului prin molecula mare, ușor degradabilă, a fibrinogenului (Stoichiță și colab., 1963). (6) *Anticorpii antinucleari (AAN)* apar mai frecvent în PR sub forma anticorpilor anti-ADN-histone (la 25% din bolnavi), corelîndu-se cu prezența de celule LE. Unii autori consideră că prezența AAN se asociază cu o tendință crescută spre visceralizare a bolii. Deicher (1971) conturează o formă clinică de PR cu AAN crescuți în ser, care ar evolua cu febră, manifestări inflamatorii articulare, VSH crescută mult, hiper-gamaglobulinemie; artrita este însă mai asemănătoare cu LED decît cu PR din punct de vedere al modificărilor osoase. (7) *Anticorpii antilimfocitari* se găsesc adsorbiți pe supra-

fața celulelor-țintă, modificînd reactivitatea acestora. Se găsesc și în ser, liberi sau sub forma de CI cu antigenele de membrană limfocitară dizolvate în plasmă. Au specificitate anti-T.

Pe lîngă anticorpii cu semnificație patogenică menționați, trebuie subliniată și importanța anticorpilor față de numeroase alte proteine endogene care pot fi degradate în mediul inflamator.

Anticorpii și CI cu FR sînt elementele de agresiune care produc și întrețin boala prin leziuni de tip III predominante. Complexele formate în precipitate largi fixatoare de C′ care apoi sînt captate din circulație mai ales de celulele Kupffer nu produc leziuni decît cînd depășesc capacitatea de clearance a întregului SRE. PR este boala tipică în care CI cu FR în condiții speciale se concentrează în articulație și în unele vase producînd leziuni.

2. *Leziunile sistemice vasculare*

Vasculita reumatoidă este cea mai serioasă complicație a PR, asociindu-se și cu alte manifestări de visceralizare (Hollingsworth și colab., 1977). Preferențial sînt atinse vasele mici, cu diametrul exterior de 30—40 μ, inclusiv cele din tecile nervoase și mușchii scheletici. Histologic, vasculita nu prezintă trăsături patognomonice, leziunile fiind foarte variabile : acute necrozante în vasele mari, ca în PAN ; endarterită proliferantă a vaselor digitale cu infiltrat inflamator discret ; leziuni subacute cu intensitate variabilă, în arterele mici. Patogenic, leziunile ar fi de tip III prin CI, dar probabil și de tip IV cu limfocite sensibilizate (Parish, 1977).

Nodulii reumatoizi pot fi prezenți în zonele de maximă tracțiune cutanată la 20% din cazuri sau pot avea o localizare sistemică : plămîn, coroidul ocular, orificiul aortic sau mitral, miocardoseptal, pleuropericard etc. Evoluția lor histologică sugerează că mecanismul de formare al acestora este legat inițial de modificări vasculare prin mediatori chimici, după cum urmează toate reacțiile inflamatorii din CI, inclusiv cu apariția de celule epitelioide la urmă și infiltrație de limfocite sensibilizate prin mecanism de tip IV (v. cap. VI, C).

Steward (1976) presupune, ca și pentru alte boli prin CI, că în PR apare o deficiență a sistemului anticorpo-formator, cu persistența antigenului în organism printr-un răspuns imun deficitar calitativ, existînd o afinitate scăzută a anticorpilor pentru antigen (Steward, 1973, 1977.)

Sindromul de hipervîscozitate este în genere neglijat și rar diagnosticat în clinică (Hollingsworth și colab., 1977). Simptomele apar cînd indicele vîscozimetric este peste 4 și sînt cunoscute : diateză hemoragică, retinopatie, semne de encefalopatie, precum și unele simptome regionale de obstrucție vasculară cu ulcere cutanate și chiar infarct mezenteric. Coincide obișnuit cu vasculita, cu care se poate confunda. Apare mai ales cînd CI sînt 13—17S.

Modificările limfocitare sînt încă foarte controversate, cu rezultate contradictorii (v. cap. VI, C).

Formarea autoanticorpilor în PR indiferent de specificitatea lor, este problema-cheie a patogeniei acestei afecțiuni și în general a tuturor colagenozelor.

Într-o primă situație se presupune că apărarea imună a bolnavilor are o particularitate de reacție prin pierderea toleranței față de self, deci ar fi o predispoziție genetică către autoagresiune, fără corespondent încă în harta antigenelor de membrană HLA-A și HLA-B, dar posibil asociat cu o configurație a zonei HLA-D (v. cap. I, E).

În a doua situație, agentul patogen neidentificat favorizează acestă stare de diminuare a supravegherii imune, pe de o parte, și formarea de autoantigene prin degradarea proteinelor proprii la nivelul inflamației pe care o provoacă, pe de altă parte. Ambele supoziții aduc o lămurire cel puțin parțială a mecanismului de autoîntreținere. După Ziff (1973), formarea FR prin selecție sau deleție clonală s-ar produce prin 3 mecanisme: 1) molecula de IgG ar fi modificată enzimatic sau chimic sau prin combinarea cu antigenul; 2) limfocitul T sensibil, stimulat de contactul cu un antigen sub formă de CI, ar produce un factor nespecific de sinteză de Ig, astfel că celulele tolerante ar putea produce antiglobuline; 3) C3 activat prin interreacție cu CI sau proteazele lizosomale ar deveni un semnal de sinteză de Ig în celulele B sensibile la antigene proprii.

Astfel, activarea nespecifică policlonală a celulei B secretoare de anticorpi duce la activarea clonelor tolerante, la sinteză de autoanticorpi, amplificată de formarea de autoantigene în procesul de inflamație, ceea ce perpetuează cercul vicios. Cel mai probabil, ca și în LED, la baza cercului vicios stă un deficit imun genetic și o stare de toleranță slabă (v. cap. VI, C).

E. *Periarterita nodoasă și grupul de angeite necrotizante*

Periarterita nodoasă sau poliarterita nodoasă (PAN), descrisă ca entitate clinică și histopatologică de către Rokitansky (1852) și Küssmaull-Meyer (1856), este considerată acum ca făcînd parte din bolile de colagen prin leziuni de degenerescență și necroză fibrinoidă la care se adaugă o infiltrație inflamatorie în peretele sau în jurul vasului lezat.

Clasificarea după Paronetto (1976) apare cea mai convenabilă:

a) *Periarterita nodoasă* — Leziuni acute și cronice care cuprind cele 3 straturi ale arterelor de tip muscular cu fomare de anevrisme. Arterele pulmonare și splenice penicilate nu sînt interesate.

b) *Angeita de hipersensibilitate* — Angeita venulelor mici, arteriolelor și arterelor mici.

c) *Angeita granulomatoasă* — Necroză vasculară multisistemică și granulom extravascular.

d) *Granulomatoza Wegener* — Proces de granulomatoză distructivă a tractului respirator superior și inferior, cu arterită multisistemică necrozantă și glomerulită necrozantă.

e) *Nefroscleroza malignă* — Necroza arteriolelor renale și mai puțin extrarenale, hiperplazia intimei a arterelor renale intraparenchimatoase, ca și modificări acute și reparatorii în glomerulii renali la bolnavii cu hipertensiune.

f) *Arterita cu celule gigante* — Distrugerea elasticii arterelor cu necroză fibrinoidă, histiocite, limfocite, plasmocite, neutrofile și celule gigante. Fibroza și ocluzia lumenului sînt sechele uzuale. Leziunile sînt de obicei localizate (temporal, oftalmică și craniale; de asemeni, arterita brahiocefalică și arterita Takayasu). Unele din aceste tipuri pot fi considerate entități separate.

g) *Papuloza malignă atrofică* — Necroză fibrinoidă și neutrofile în intima vaselor cu proliferare endotelială și ocluzie a lumenului prin trombi. Pielea și tractul digestiv sînt de obicei implicate (pielea arată zone atrofice, iar tractul digestiv focare de necroză prin coagulare).

h) *Sindromul Henoch-Schönlein* — Angeită acută a pielii și tractului gastrointestinal asociată cu glomerulonefrită.

i) *Arterită asociată cu lupus eritematos sistemic* — Necroză fibrinoidă a capilarelor și arteriolelor, ocazional cu reacție inflamatorie.

j) *Arterita reumatoidă* — Alterarea vaselor poate arăta: (*1*) angeită necrozantă, (*2*), arterită subacută cu limfocite și histiocite fără necroză, (*3*) endarterită fibrozantă progresivă. Tratamentul cu steroizi poate declanșa o vasculită.

k) *Febra reumatică* — Vasele pot arăta: (*1*) angeită necrozantă acută, (*2*) necroză fibrinoidă cu limfocite și plasmocite.

l) *Dermatomiozita* — Angeită diseminată care cuprinde mușchii striați, tractul gastrointestinal, articulațiile, vezica biliară și urinară. Constă în îngroșarea intimei sau vasculită acută necrozantă cu neutrofile și manșon adventițial cu mononucleare.

Caracterul comun al PAN și al tuturor angeitelor necrotizante cuprinde similitudinea leziunilor histopatologice de infiltrație inflamatorie în peretele arteriolelor și arterelor medii, cu caracter sistemic, însă in care circulația și depunerile de CI sînt rare și puțin cercetate, iar caracterul de boală autoimună este nedovedit. Leziunile însă apar și se dezvoltă ca în boala experimentală de CI, fiind reproduse de Rich și Gregor prin hipersensibilizare cu ser eterolog.

Din punct de vedere clinic există un polimorfism larg, cu forme grave acute, uneori fulminante, dar și cu forme subacute și cronice de gravitate variată, cum este PAN. Alte forme, ca arterita temporală sau unele angeite cu CI după hepatita cu antigene Hbs, sînt trenante și reversibile. Există însă forme severe, greu de tratat, ca granulomul Wegener și nefro-angioscleroza malignă.

Formele de angeită de hipersensibilizare, în care se implică de cele mai multe ori un antigen medicamentos, au o evoluție pasageră, cu forme grave, care amintesc vasculitele tip purpură fulminans sau un fenomen Sanarelli-Schwarzman. Acestea, ca și diferitele tipuri de boală Henoch-Schönlein sînt vasculite în care leziunile de tip Arthus sînt uneori hemoragice, deși pot fi nodular-necrotice prin tromboză de endotelită inflamatorie.

În toate formele cunoscute nu există modificări imunoserologice specifice de boală autoimună, de aceea şi diagnosticul se bazează pe leziunile histopatologice, cercetate pe biopsie cutanată, musculo-cutanantă sau renală şi mai rar pe un segment al tubului digestiv, gingie sau ganglion limfatic.

Aspectul clinic de boală inflamatorie generală, absenţa unei etiologii specifice, ca în formele caracteristice de PAN, şi evoluţia cu caracter de autoîntreţinere sînt argumente pentru a include PAN în bolile cu mecanism de autoagresiune, deşi nu s-au găsit autoantigene sau autoanticorpi specifici. Este posibil însă să intervină un mecanism de autosensibilizare celulară prin limfocitele T. Formele cu etiologie cunoscută, cu antigene HBs, ca şi unele forme prin sensibilizare la droguri, pot să fie considerate ca boli prin CI. La noi în ţară există lucrări asupra acestor forme virale (Voiculescu şi colab., 1962), iar formele tipice de PAN au fost iniţial descrise de către Marinescu şi Drăgănescu (1928), ca forme cu determinări neurologice şi ca forme sistemice de către Berceanu şi Ciucureanu (1950). *PAN* atrage atenţia ca simptomatologie clinică de boală generală apropiată de reumatismul poliarticular acut, însă cu determinări articulare mai atenuate, însoţite de mialgii, cu exsudaţie articulară la 40% din cazuri. Simptomul predominant este febra, la cel puţin 70% din cazuri. Simptomele cutanate apar la 60% din cazuri, însă nodulii infiltrativi pe membre şi trunchi foarte caracteristici prin leziunile histologice apar numai la 20% din cazuri. Determinările pulmonare, cu infiltrate variate, însoţite în genere de eozinofilie, sînt rare şi mai ales cele cu infiltrate fugace, în afară de granulomatoza Wegener cu caractere speciale de mare gravitate.

Leziunile arteriale şi arteriolare sistemice condiţionează hipertensiunea arterială şi afectarea renală la 45% din cazuri cu evoluţie severă. Biopsiile renale arată dealtfel o atingere renală mult mai frecventă la 70% din cazuri. Determinările nervoase sînt foarte frecvente, la 80% din cazuri din statistica lui Ford, dintre care 40—60% în trunchiurile nervoase periferice, cu paralizie, şi în 50% cu localizări centrale. Există apoi localizări abdominale cu simptome de gravitate variată, unele de abdomen acut prin angeita necrotizantă în sistemul arterial mezenteric, ca în primele cazuri descrise de noi (Berceanu şi Ciucureanu, 1950).

Diagnosticul de PAN implică prezenţa leziunilor histologice, cele mai specifice fiind în nodulii subcutanaţi. Leziunile constau în primul rînd în îngroşarea peretelui vascular, cu degenerescenţă sau necroză fibrinoidă şi cu bogată infiltraţie inflamatorie cu polinucleare neutrofile, eozinofile, histiocite, plasmocite cu dispoziţie în tunica medie, progresînd spre endoteliu, dar şi către adventice şi periadventice. Pot apărea celule gigante cu caracter de corpi străini şi trombozarea lumenului prin depozit de fibrină. În jurul vasului din ţesutul colagen pot exista leziuni de degenerescenţă fibrinoidă, cu îngroşare de fascicule conjunctive, cu reacţie histiocitară şi fibroblastică, cu depunere de material eozinofil sau bazofil şi chiar cu prezenţa de corpi hematoxilinici (Berceanu şi colab., 1959). În arteriole şi în arterele medii renale şi cerebrale, prin distrugerea tunicii musculare, apar anevrisme care se pot evidenţia la angiografii. Leziunile pot să fie însă în mai multe faze, iniţial predominînd imbibiţia

eozinofilă și infiltrația inflamatorie, apoi evoluția spre scleroză cicatricială, mai ales în rinichi; există apoi o predominanță a leziunilor infiltrative în straturile interne sau în adventice și periadventice.

Nu există cercetări sistematice histo- și imunochimice asupra materialului eozinofil PAS-pozitiv care apare în pereții vaselor. S-au găsit totuși, în unele cazuri, depuneri de Ig sau chiar Ig + C + fibrinogen în cazuri, care aveau însă caracter de angeite prin hipersensibilizare (Paronetto și Vernace, 1975). Argumente pentru boală prin CI circulante sînt rare; ele există în formele considerate ca secundare infecțiilor prin HBs, din hepatita acută virală, mai ales în perioada de invazie, la bolnavi cu incubație lungă. Glocke și colab. (1970) la 4 din 11 cazuri, găsesc antigen HBs în CI detectate cu metoda C1q, precum și depozite de IgM și antigen HB în leziunile cutanate. Trepo și colab. (1974) susțin etiologia complexelor imune prin CI pe care le identifică serologic la 30 din 55 bolnavi, la 13 găsind și anticorpi specifici anti-HBs. În 5 cazuri se constată o vindecare a leziunilor de angeită după dispariția antigenului HBs din ser.

Alte cercetări serologice nu au găsit modificări specifice pentru boală prin CI sau boală autoimună. Se susține chiar că etiologia virală este puțin probabilă întrucît există foarte multe cazuri cu prezență de antigen HBs fără semne de angeită necrotizantă; este posibil ca antigenele și Ig evidențiate în leziuni să fi fost captate pasiv prin traversarea endoteliului vascular lezat ca urmare a unui alt proces inflamator. Pe de altă parte însă, absența CI dintr-o leziune care reproduce boala prin CI nu exclude această etiopatologie. Dealtfel chiar în leziuni de tip Arthus din boala serului CI dispar în cîteva zile. Trebuie amintite și cazurile descrise de Nowoslesky și colab. (1972), cu depozite de IgG, IgM, antigen și complement în leziuni; de asemenea, unele modificări serologice în prezență de PAN (Seligman și colab., 1965). Încercările de a găsi antigene specifice vasculare și autoanticorpi antivas au rămas însă negative.

◆

Dintre angeitele necrotizante granulomatoase, *granulomatoza Wegener* este o formă în care leziunea de granulom în peretele arterial devine gigantă, luînd caracter tumoral prin confluența mai multor granuloame. Leziunile necrotice din partea superioară a tractului respirator constau din necroza distructivă a septului nazal și a sinusurilor maxilare; granulomatoza gigantă în arterele pulmonare ia un caracter tumoral cu mai multe localizări vizibile radiologic. Într-un caz urmărit de noi, pe piesa extirpată chirurgical și considerată tumoră pulmonară, s-au găsit leziuni de granulom cu celule gigante interpretate ca granulom Hodgkin; corticoterapia și endoxanul au dus la remisiuni foarte bune.

Există însă cazuri cu granulom mai redus însă cu necroze distructive profunde. Într-un asemenea caz urmărit de noi, leziunile erau distructive în fosele nazale, cedînd la terapia cu cortizon. După o supraviețuire de 5 ani bolnava a sucombat printr-o histiocitoză malignă foarte extensivă.

Afectarea renală cu leziuni în focar sau difuze, cu hipertensiune și hematurie, concomitent cu alte localizări granulomatoase, mai ales pulmonare, este caracteristică pentru diagnostic. Caracterul de boală prin CI a fost dovedit în unele cauri prin depunere de IgG și C în leziunile renale descrise și la copii.

Avînd în vedere absența unui agent sensibilizant, ca și caracterul leziunilor, sindromul Wegener ar fi diferit de angeitele de hipersensibilizare și de PAN în forma clasică Küssmaull-Meyer. Se presupune însă și un mecanism comun de hipersensibilizare de tip tardiv, în unele cazuri limfocitele eliberînd MIF în contact cu diverse antigene (Shikata și colab., 1974).

Angeitele de hipersensibilizare afectează, ca și în PAN, arteriolele, arterele medii, dar și venulele și venele, mai ales în localizările dermohipodermice. Prin anamneză, reiese existența unui factor sensibilizant exogen, care poate fi un medicament (sulfamidă, cloramfenicol, fenilbutazonă sau alt anti-inflamator, penicilină sau alt antibiotic, ioduri, săruri de Au, bismut, arsenic, seruri heterologe etc.), un factor infecțios (meningococ, pneumococ, strepto- sau stafilococ, infecții fungice sau cu protozoare) sau antigene care dau sensibilizare imediată, ca cele din astm și urticarie (polenuri, antigene alimentare). Există dovezi pentru acțiunea sensibilizantă a acestor antigene prin testele curente intradermice și de provocare sistemică.

Histologic, leziunile sînt comune și cu totul asemănătoare celor de tip CI, ca în fenomenul Arthus, cu edem și endotelită, infiltrație inflamatorie, trombus intravascular și leziune perivasculară, de multe ori cu predominanță limfocitară, histiocitară și plasmocitară. După intensitatea răspunsului imun se pot asocia tulburări sistemice cu febră, artralgii, rașuri de tip anafilactic, iar în cazuri grave, mortale, leziuni vasculare trombozante și hemoragice în rinichi, cord, creier, mușchi, plămîn etc. În formele prelungite sau cu pusee repetate, ca în *boala serului*, leziunile necrotizante cu depunere de material fibrinoid pot să prezinte celule gigante.

Deși cercetările imunochimice sînt reduse s-au găsit în pereții vaselor antigene bacteriene streptococice sau stafilococice, precum și antigene de candida (Coperman, 1970), uneori cu prezența C și a proteinei C-reactivă (Parish, 1971). Prezența antigenului poate să fie secundară, prin pătrunderea sa în peretele vasului lezat. Paronetto susține această posibilitate, deși descrie unele cazuri cu leziuni în arteriolele pulmonare în care se pot găsi Ig și C care atestă o patogenie imună.

Testele de sensibilizare imediată cutanată pot să fie pozitive cu diverse antigene. Încercările de a testa o autosensibilizare cu antigene vasculare nu au dat rezultate pozitive sau confirmate (Berceanu și colab., 1965).

Sindromul Goodpasture este tot o vasculită necrotizantă, declanșată de o infecție virală, mai ales gripală, în care însă s-au găsit elemente caracteristice de boală autoimună. Complexele imune sînt așezate liniar, caracteristic pentru autoanticorpul față de antigenele din membrana bazală.

În alte angeite de hipersensibilizare se pot întîlni leziuni granulomatoase, uneori apropiate de granulomatoza Wegener, formînd un grup aparte descris de Churg (1951, 1963). Se pot întîlni ca leziuni asociate în astm, în febra de fîn și în rinita alergică după antigene variate. Se incriminä și un mecanism de sensibilizare tardivă, cu depuneri de fibrinogen și de limfocite, însă în unele cazuri și cu depuneri de Ig și C (Paronetto, 1975) și infiltrație cu eozinofile, granulocite, neutrofile, histiocite și celule gigante în leziunile pulmonare și renale.

Arteritele cu celule gigante au același tip de leziuni ca și angeitele de sensibilizare, însă sînt mai apropiate de PAN. Se delimitează 3 tipuri anatomo-clinice : (1) *arterita arcului aortic sau a trunchiului brahiocefalic*, care determină boala fără puls, cunoscută ca *sindrom Takayashu*; (2) *arterita temporală* sau *boala Hurton* și (3) *polimialgia reumatică*.

1) *Sindromul Takayashu* apare clinic mai ales ca sechelă sclerozantă de leziune infiltrativă cu tromboză și scleroză a trunchiului brahicefalic, care determină tuburări ischemice la membrele superioare și în teritoriul cerebral, cu manifestări variate pînă la cecitate, paralizii, confuzie și chiar sincopă.

Caracterele de boală autoimună se manifestă prin prezența de anticorpi față de antigenele din peretele aortic (Nakao, 1967 ; Nedu și colab., 1971). Alte cercetări nu au depistat prezența acestor autoanticorpi (Hirsch și colab., 1964).

În perioada de evoluție inițială — așa cum am remarcat și noi — există semne de boală sistemică imună, cu VSH crescut, hipergamaglobulinemie, hiperleucocitoză, crioglobulinemie, FR și FAN, concomitent cu dureri musculare și articulare ; prin hemaglutinare pasivă se pot găsi anticorpi față de diverse antigene tisulare, care ar putea să fie anticorpi crossreactanți după infecții virale sau microbiene (Berceanu, 1975).

2) *Arterita temporală*, descrisă de Hurton în 1932, a fost semnalată mai demult de către Hutchinson (1890). Este mai frecventă la femei (75% din cazuri) și se manifestă, zgomotos, ca o leziune inflamatorie, artera temporală apărînd mărită și dureroasă. Frecvent este însoțită de leziuni în artera retiniană, manifestîndu-se cu dureri mari de cap și tulburări oculare pînă la amauroză completă. Se poate manifesta însă și cu semne ischemice în sfera arterelor cerebrale și brahiale.

Diagnosticul se pune prin biopsia de segment arterial, care arată leziuni de granulomatoză ca în PAN, însă cu frecvente celule gigante. Serologic există unele modificări de boală reactivă nespecifică, care se mențin pe durata arteritei și cedează după tratament.

3) *Polimialgia reumatică* apare la bătrîni, cu dureri și impotență musculară, uneori cu febră și cu unele modificări serologice nespecifice, ca în arterita temporală cu care se poate asocia în 50% din cazuri. Biopsia musculară arată leziuni de arterită asemănătoare cu cele din arterita temporală, cu celule gigante, cu leziuni exsudativo-inflamatorii interstițiale, însă fără afectarea fibrelor musculare. Se pot găsi antigene de sensibilizare la unele droguri ; eliminarea acestora și corticoterapia duc la remisiuni complete. Este posibil un mecanism de sensibilizare tardivă întrucît s-au găsit teste pozitive de transformare blastică a limfocitelor prin antigene vasculare (Hamilton și colab., 1971 ; Hazelman și colab., 1975).

Terapia colagenozelor vasculare în grupul de angeite necrotizante, prin rezultatele obținute, întărește ipoteza de patogenie imună. Terapia este similară cu cea din LED, cu rezultate foarte bune. Corticoterapia se aplică în doze mari în PAN și în doze mai mici de 1 mg/kg corp în granulomatoza Wegener. În genere, în formele care necesită doze foarte mari sau devin corticodependente, se asociază imunosupresia prin endoxan, condusă cu prudență de la caz la caz (Fauci și colab., 1979 ; Conn și colab., 1979 ;

Elkon şi colab., 1979). În formele rezistente, asocierea de două citostatice, ca azotioprina şi endoxanul sau serul antilimfocitar, poate duce la rezultate bune (Jäger, 1976).

Prin acest tratament, pentru PAN s-a ajuns de la o supravieţuire de peste un an în numai 15–20% din cazuri la de peste 5 ani în 50% din cazuri. În situaţii rare, cu evoluţie gravă, sistemică, în care s-au găsit CI circulante, plasmaforeza asociată la imunosupresive a dat rezultate bune (Loockward şi colab., 1977; Pussel şi colab., 1979).

Rămîn încă rezistente la tratament multe cazuri de granulomatoză Wegener şi de aortită cu celule gigante a trunchiului brahiocefalic.

F. *Sindromul Sjögren*

A fost descris de Sjögren în 1936 şi 1943. De atunci a fost mult studiat din punct de vedere imunologic, putîndu-se delimita de alte colagenoze majore, ca LED, PCE, sclerodermie, precum şi de alte boli autoimune ca tiroidita Hashimoto, AHAI şi PTI.

Din punct de vedere clinic (Berceanu, 1968, 1975) este caracterizat în primul rînd prin uscarea conjunctivelor (keratoconjunctivita sicca) şi a gurii (xerostoma), prin scăderea pînă la dispariţie a secreţiei glandelor salivare şi lacrimale.

Deşi există leziuni de distrugere şi atrofie a glandelor salivare, acestea — în special parotida — sînt mărite de volum, uni- sau bilateral, datorită infiltraţiei limfoplasmocitare. Sînt posibile şi tulburări de secreţie ale glandelor bronşice şi vaginale.

Există o mare frecvenţă la femeile de vîrstă medie, dar cazuri rare la copii şi la bătrînii peste 70 de ani. Testele de explorare a secreţiei lacrimale şi salivare, precum şi scintigrafia cu tecneţiu permit aprecierea stării anatomice şi funcţionale a glandelor (Schall şi colab., 1971).

Examenul morfologic prin biopsia glandei submaxilare sau sublinguale pune în evidenţă leziunile caracteristice (Bloch, 1976), care constau din: infiltraţie de limfocite diferenţiate sau mai puţin diferenţiate care dislocă epiteliul glandular pînă la distrugere totală înlocuindu-l cu ţesut grăsos. Canalele glandulare persistă, prezentînd unele ectazii sau proliferări epiteliale şi mioepiteliale. În atrofia completă a glandelor se găsesc numai insule de proliferare mioepitelială şi limfocite într-un ţesut grăsos. Pot să apară foliculi limfoizi cu centri germinativi activi, iar în formele cu transformare malignă leziuni caracteristice de limfom, în genere cu celule nediferenţiate, care invadează tot ţesutul limfoid.

La necropsie s-au găsit leziuni de tiroidită cu acelaşi aspect de infiltraţie limfoidă şi distrugere a foliculilor, inclusiv cu posibilitate de transformare în limfoame maligne, care uneori se disting greu de infiltraţia limfoidă reactivă. Diferenţierea se face prin leziunile de gande salivare unde predomină insule mioepiteliale cu infiltraţie limfoidă mai săracă.

Profilul imun complex al sindromului este dat mai ales de *modificările imunoserologice*. În sîngele periferic, la 1/3 din 62 cazuri, Bloch semnalează leucopenie şi numai la 10% din cazuri o hiperleucocitoză. Există o

hipergamaglobulinemie policlonală, cu creştere în special de IgG şi IgM sau în unele cazuri este foarte severă (3—4,9 g/100 ml) şi poate fi însoţită de purpură tip hipergamaglobulinemie.

În multe cazuri apare o crioglobulinemie mixtă prin complexe IgG şi IgM; cînd crioprecipitatul este foarte mare, sînt posibile scăderi de gamaglobulină întrucît în macroagregate se leagă IgM cu IgG_1, IgG_2 şi IgG_4 (Brown, 1977). Prin ultracentrifugare s-au izolat fracţiuni de tip 7S şi complexe 9—15S (Bloch, 1976).

Prezenţa de autoanticorpi specifici celorlalte colagenoze majore constituie o altă caracteristică a bolii. FR apare în titru diferit la 96—100% din cazuri sau numai la 75% prin reacţia Waaler-Rose. În culturi, limfocitele suspendate din infiltratele glandulare secretă IgG şi IgM cu caractere de FR. S-a izolat o $beta_2$-microglobulină cu secvenţa aminoacizilor similară cu cea de IgG, ceea ce pune în discuţie generarea de anticorpi anti-IgG similari cu FR, crossreactanţi cu această $beta_2$-microglobulină.

Anticorpii antinucleari constituie o altă asociere de dereglare imună, cu o frecvenţă de 70%. Se consideră că antigenul nuclear pentru acest anticorp este diferit de cel din boala lupică, fiind solubil în soluţii saline. Celule LE apar numai în formele asociate cu LED tipic sau cu PCE, ceea ce arată că FAN din sindromul Sjögren nu este un anticorp faţă de nucleoproteinele native (Steinberg şi Talal, 1971). S-au descris însă celule pseudolupice în sîngele periferic, care constau din monocite sau polimorfonucleare cu incluziuni de material nuclear, fără a fi însă specifice sindromului Sjögren (Urbaszek şi colab., 1970).

Sînt foarte frecvenţi anticorpii antitireoglobulină, găsindu-se la mai mult de jumătate din cazuri, asociat sau nu cu leziuni tiroidiene. Se ştie însă că anticorpii antitireoglobuline se găsesc şi la femei normale, cu frecvenţă de 25,7% după vîrsta de 35 de ani, iar leziuni tiroidiene cu infiltraţie limfoidă s-au găsit la necropsie la 30% din femei.

Anticorpi specifici pentru celulele epiteliale ale tubilor glandulari se găsesc mai rar, 10% din cazurile cu sindrom Sicca şi 45% în cazurile cu asocieri de PCE.

Sînt semnalate de asemenea cazuri cu anticorpi antifibră musculară netedă sau striată.

Studiile de imunitate celulară sînt mai rare deşi sindromul constă dintr-o proliferare iniţial reactivă, apoi malignă a sistemului limfoid. Se pare că există un deficit al limfocitelor T, cu răspuns sărac de transformare blastică la mitogene, iar *in vivo* cu sensibilizare de contact redusă la DNCB. Testele imune celulare sînt mai frecvent pozitive la bolnavii cu asociere de boală reumatoidă.

Deficitul imun celular poate să condiţioneze transformarea malignă spre limfoame sau pseudolimfoame cu potenţial de malignizare care survine la 50% din bolnavii trataţi cu imunosupresive şi iradiere pe parotidă.

Cercetările din ultimii doi ani arată că dereglarea imună cu unele deficite în sistemul T şi cu pierderea toleranţei pentru mai multe autoantigene în sindromul Sjögren ar fi asociate cu anumite structuri MHC. Montsopulos şi colab. (1979) găsesc că antigenele Ia — 715, care predomină în LED şi în sindromul Sjögren asociat cu LED, pot să fie asociate cu pierderea toleranţei faţă de antigenele nucleare şi cu apariţia de FAN de

anumite tipuri. Mai mulţi cercetători susţin că există o diferenţă în dereglarea genetică a sindromului Sjögren primar pur şi cel asociat cu PCE (Alspauh şi colab., 1976 ; Akizuchi şi colab., 1977 ; Chiused şi colab., 1977 ; Mantsopulos şi colab., 1978, 1979). Într-un studiu recent, pe 33 de bolnavi cu sindrom Sjögren, s-a găsit o frecvenţă de 59% a antigenului HLA-B8 la cazurile cu sindrom Sicca primar, pe cînd la normali şi în sindromul Sicca secundar frecvenţa este respectiv de 24% şi de 9%. Antigenul asociat la HLA-B8, DRw3 are o frecvenţă de 64% în Sicca primar şi numai de 9% în cel secundar, pe cînd DRw4 are o frecvenţă mare în forma secundară asociată cu PCE şi mică în cea primară. De remarcat că în PCE se observă de asemenea o frecvenţă mare de DRw4. Există în plus o diferenţă în repartizarea antigenelor asociate Ia-172 şi Ia-350 la normali şi la Sicca primar sau secundar. Aceasta denotă că există anumite gene care reglează tulburarea autoimună specifică sindromului Sicca pur şi alte gene pentru sindromul Sicca secundar asociat cu PCE.

O concluzie asupra unei patogenii sau etiopatogenii sigure care să determine un sindrom aşa de complex este greu de tras. Există sigur însă argumente că sindromul face parte din bolile imune cu alterare profundă multifactorială a imunităţii. Dereglarea imună la nivel central para-HLA face ca antigenele tolerogene pentru glandele acinoase, pentru imunoglobuline, pentru nucleoproteină şi pentru tireoglobulină să depăşească un anumit prag şi să apară anticorpi specifici pentru aceste antigene. Se poate însă să se producă reacţii autoimune complexe prin dereglări în sistemul Th—Ts, care trebuie însă precizate. Sînt de asemenea necesare studii asupra rolului unor factori infecţioşi, poate virali, chiar dacă s-au găsit pînă acum incluziuni în leziunile de glandă numai la un număr mic de bolnavi, în citoplasma tubilor glandulari (Shearn şi colab., 1970 ; Talal, 1974).

Faptul că o mare parte din cazuri se transformă în limfoame maligne constituie un argument pentru disfuncţia imună în care stimularea continuă autoantigenică sau poate heteroantigenică să determine transformarea malignă a limfoproliferării reactive (Berceanu, 1975, 1977, 1979 ; Lennert, 1978, 1979). Încercările de a reproduce experimental boala prin injecţie de extract de glande în adjuvant Freund nu au reprodus boala, deşi apar autoanticorpi (Bentiner şi colab., 1976). S-au obţinut însă infiltrate limfocitare în glandele salivare fără modificări mioepiteliale caracteristice (Chan, 1976).

La hibrizii NZB—NZW în ciclul sindromului complex de AHAI şi LED apar şi leziuni conjunctive şi atingeri de glandă salivară şi lacrimală (Kessler şi colab., 1971). Leziuni asemănătoare s-au descris la un rozător din Africa de Sud într-un sindrom asociat cu timus şi polimiozită.

G. *Alte forme de colagenoze*

Polimiozita (PM) sau dermatomiozita (DM) corespunde, după denumire, localizării predominante sau exclusiv a leziunilor degenerativ inflamatorii în muşchi sau în piele. Încadrată în colagenozele cu mecanism autoimun, a fost descrisă detaliat de către Şuţeanu şi Moangă (1975). Debutul clinic

şi evoluţia cu atingere vasculară şi viscerală, caracterul leziunilor, asocierea frecventă cu neoplazii sau cu alte boli autoimune sînt argumente pentru boală imunologică.

După evoluţie, vîrstă şi predominanţa manifestărilor clinice (Şuţeanu şi Moangă, 1975 ; Jäger, 1976) s-au descris 3,4 sau chiar 6 tipuri clinice, în care se disting asocierile sindromului musculo-cutanat cu un sindrom articular şi un sindrom general cu febră şi astenie severă. Asocierea cu neoplaziile, cu frecvenţă de pînă la 50% constituie un tip special, ca şi formele întîlnite la copii cu evoluţie severă.

Determinările viscerale constituie un factor de mare gravitate, în special prin atingerea cordului ; afectarea miocardului se explică prin leziuni de crossreacţie între fibrele musculare striate, fibrele miocardice şi fibrele musculare netede. Există apoi determinări pulmonare sclerozante şi pneumonie interstiţială, precum şi determinări ale tractului digestiv cu intensitate variabilă, unele reversibile.

Diagnosticul este sugerat de manifestările clinice musculo-cutanati în cadrul unor boli generale, uneori cu caracter septic care se precizează prin leziunile specifice de biopsie şi alte explorări de laborator.

Explorările de laborator arată unele modificări nespecifice ca şi în alte colagenoze : VSH, proteină C reactivă, fibrinogen crescute, hipergamaglobulinemie în genere cu complement nemodificat.

Leziunile histopatologice în biopsia efectuată în zonele musculare cu modificări de electromiografie sînt caracteristice în formele acute, proces de miocardită necrotizantă cu alterări de miofibrile, cu resturi fagocitate de histiocitele aglomerate în jurul focarului necrotic. Reacţia inflamatorie din jurul acestor focare este bogată şi polimorfă, cu granulocite neutrofile şi eozinofile, limfocite şi plasmocite, iar macrofagele de asemenea abundente pot lua caracter de celule epitelioide. Se adaugă leziunile de angeită necrotizantă, uneori asemănătoare cu cele din PAN ; sînt greu de diferenţiat de aceasta cînd procesul miozitic este redus predominînd vasculita cu caracter granulomatos.

În alte cazuri, leziunile sînt reduse la un edem interstiţial cu uşoară tumefiere a fibrilelor şi cu leziuni vasculare moderate sau uşoare, cu procese de endotelită şi de reacţie periadventiţială. Se ştie însă că biopsiile relevă focarul caracteristic într-un procentaj de 20—25%, astfel că există cazuri la care biopsia trebuie repetată de mai multe ori.

Leziunile cutanate chiar în formele cu atingere dermatomiozitică predominantă nu sînt specifice : edem cu degenerescenţă eozinofilă a fibrelor de colagen, infiltraţie inflamatorie papilară şi peripapilară, cu unele modificări ale epidermului.

Dintre modificările serologice, complementul nu prezintă modificări caracteristice. S-au citat cazuri rare de scăderi genetice în factorul C2 (Leddy, 1977). Dawkins (1977) menţionează depuneri de IgG în leziunile cutanate, însă infirmă alte cercetări ce descriu depuneri de IgG şi complement. Nu s-a pus în evidenţă un factor imun toxic care să explice leziunile de DM. Este însă posibil un deficit imun de tip B şi poate T, care ar condiţiona boala. De asemenea se incriminează un rol al limfocitelor T sensibilizate cu acţiune anti-fibră musculară dovedită în culturi *in vitro*, în care ar juca un rol şi anticorpii fixaţi pe limfocite (Dawkins, 1975).

Contextul imunologic este susţinut şi pe baza anumitor cercetări care arată o stare de hipersensibilizare pe un fond genetic imun labil. Se explică astfel asocierile din cancer, asocierile cu unele stări infecţioase, precum şi rolul sensibilizărilor cu sulfamidă şi cu penicilină (Shulman, 1977).

Prezenţa de formaţiuni virale în focarele de leziuni sînt de asemenea de luat în consideraţie, ca şi în boala lupică, printr-un mecanism de self-perpetuare prin antigene restante la persoane cu deficit imun. Totuşi, formaţiunile virale nu par să aibă aceeaşi importanţă ca cele din boala lupică (Sinkowicz, 1971; Germuth şi colab., 1971; Şuţeanu şi Moangă, 1975) şi de aceea nu sînt citate în tratatele recente (Jäger, 1977).

Modelele experimentale nu au adus dovezi în plus pentru patogenia leziunilor din DM. Leziunile produse cu heteroseruri după injecţie cu adjuvant Freund şi extracte musculare sînt considerate ca nespecifice. Prin imunfluorescenţă, Dawkins (1975, 1977) demonstrează în leziunile experimentale prezenţa de autoanticorpi specifici pentru antigenele de miozină din benzile striaţiilor AMI. În plus, limfocitele animalului imunizat cu extract crud de muşchi prezintă o sensibilizare la antigenele musculare depistată prin testul MIF. Jäger (1976) citează o miozită asociată cu timoma la unele animale din Africa de Sud, care prezintă anticorpi antimuşchi.

Caracterele de boală imună sînt deci greu de susţinut. Asocierile cu LED şi cu PCE, cu factori imunologici specifici acestora, au fost argumente de încadrare a DM între bolile autoimune. Conturarea entităţii de „boală asociată a ţesutului conjunctiv" (Şuţeanu şi Moangă, 1975; Jäger, 1976) care se manifestă ca o asociere de DM cu LED şi sclerodermie, cu prezenţa unui autoanticorp specific faţă de un antigen nuclear extractibil diferit de FAN, constituie de asemenea un argument general pentru natura imunologică a DM. Artralgiile, fenomenul Reynaud, limfadenopatia şi prezenţa unui FAN cu reacţie pătată de tip RNA arată legătura strînsă cu LED însă cu o autosensibilizare faţă de alt antigen nuclear (Sharp şi colab., 1972).

După Dawkins, la 50% din cazurile cu DM există o scădere de IgG şi/sau de IgG. Formele cu hipergamaglobulinemie exagerată trebuie suspectate de asociere la alte boli imune. Autoanticorpii anti-fibră musculară, detectabili prin imunfluorescenţă, nu par să fie specifici (Gaspary, 1964). Există anticorpi heterofili cu afinitate pentru fibrele musculare şi de asemenea se evidenţiază o imunfluorescenţă nespecifică cu seruri de la bolnavi transfuzaţi, care au titru crescut de izohemaglutinine. Sînt contestate cercetările care au găsit anticorpi antimioglobulină, iar leziunile de DM asociate tumorilor ar fi prin CI.

Rezultă că testele imunologice nu pot constitui o metodă de diagnostic în DM; acesta se bazează pe fenomenele clinice, pe leziunile histologice şi pe unele modificări enzimatice clasice, cum sînt creşterea de fosfocreatin-kinază şi de aldolaze.

Sclerodermia este denumită şi scleroză sistemică progresivă sau scleroză sistemică, după propunerea lui Goetz (1945). Se caracterizează clinic prin scleroza difuză a tegumentelor care se extinde mai tîrziu sau concomitent în ţesuturi şi organe importante, ca tubul digestiv, pulmon, cord, rinichi (Şuţeanu şi Moangă, 1975; Shulman, 1976).

Scleroza tegumentelor feței dă aspectul de mască, iar pe membre și articulații distrofia cutanată afectează mișcările încheieturilor și prin atrofia musculaturii poate da aspect de DM.

Tulburările sistemice precoce se manifestă ca în bolile autoimune prin sindrom Reynaud, serozite exsudative pleuropericardice, anemii și trombocitopenii ca în LED; toate acestea pot să apară înaintea sclerozei dermice. Gravitatea bolii este dată de evoluția progresivă, cu scleroză sistemică care determină tulburări de deglutiție însoțite de dureri substernale, apoi tulburări de motilitate duodeno-jejunală cu fenomene de ileus paralitic și sindrom de malabsorbție. Scleroza pulmonară și hipertensiunea arterială pulmonară determină tulburări respiratorii care, asociate la scleroza miocardică cu aritmii și insuficiență cardiacă, apoi cu insuficiență renală și hipertensiune arterială sistemică, completează tabloul de evoluție severă progresivă generalizată al sclerodermiei.

Patogenia sclerozei sistemice este complexă; se presupun 3 mecanisme importante (Shulman, 1976): (*1*) dereglări neuro-vasculare; (*2*) alterări în structurile țesutului conjunctiv; (*3*) tulburări imune asociate, specifice altor boli imunologice, care ar pleda pentru o patogenie imună în sclerodermie.

Pornind de la caracteristica leziunilor sistemice din țesutul conjunctiv dermic și din vasele din rinichi, miocard, pulmon și tubul digestiv se constată că infiltratele inflamatorii de boală imună sînt sărace și necaracteristice; vasculita necrotizantă și infiltrația celulară sînt foarte reduse. Ceea ce predomină este îngroșarea fibrelor de colagen dermic care invadează țesutul grăsos hipodermic și atrofiază epidermul. S-ar produce o îmbogățire a fibrelor de colagen prin hiperfibriloneogeneză. Nu există însă modificări în structura colagenului, cum arată studiile de difracție la raze X și microscopia electronică.

Modificările de structură biochimică ale colagenului la formele active, fără să fie caracteristice, constau în creșteri de hidroxiprolină cu scăderea fracțiunii solubile a colagenului (Harris și colab., 1966). S-au găsit de asemenea creșteri ale mucopolizaharidelor acide, cu afinitate crescută pentru țesutul conjunctiv (Fischer și Rodman, 1960). Aceste modificări, puțin semnificative, pot fi semnele unei boli metabolice sau secundare fie unei agresiuni imune, fie unei dereglări neurovasculare.

Shulman (1976) atribuie un rol special tulburărilor de circulație care determină sindromul Reynaud și care ar putea să producă o ischemie și o paralizie circulatorie pulmonară și renală. Leziunile secundare de scleroză cu inflamație redusă s-ar produce, ca în hipertensiunea arterială esențială, prin spasm cu leziuni degenerative în arteriole. S-a semnalat și o reducere a capilarelor din dermul palmar și în musculatura cvadricepsului.

Disfuncția vasculo-nervoasă ar determina și leziunile din tractul digestiv, inițial prin atrofia musculaturii netede care ar predomina față de scleroză, așa cum arată examenele endobioptice și necroptice. La fel s-ar explica paralizia jejunală și sindromul de malabsorbție, care se însoțesc de leziuni în sistemul simpatic.

Scleroza difuză și atrofia musculaturii netede din tubul digestiv, ca și scleroza vasculară, sînt argumente pentru o colagenoză, în care mecanismul imun ar trebui dovedit.

Argumente de boală imună sînt și asocierile cu alte boli imune. Asocierile cu cancerul pulmonar sînt de asemenea un argument, însă acesta ar putea apare ca o consecință a leziunilor pulmonare și nu ca o cauză. Nu există cercetări asupra deficitelor imune sau determinărilor genetice. Imunoglobulinele sînt crescute nespecific, de tip policlonal, la 1/2 din bolnavi. Complementul nu prezintă modificări (Clark și colab., 1971). S-au semnalat intradermoreacții pozitive prin inocularea de limfocite proprii, ca un semn de reacție directă toxică a celulelor sanguine față de țesuturi (Winkelstein și colab., 1972).

Cercetările imunoserologice pun în evidență modificări care apar și în alte boli imunologice. Astfel, apar crioglobuline și semne serologice și clinice de boală Hashimoto. Modificări de boală lupică, cu prezență de FAN, apar la 78% din cazuri, însă celule lupice numai la 10%; complementul seric este însă normal, iar reacțiile fals pozitive pentru sifilis apar numai la 1% din cazuri în statistica lui Tuffanelli pe 727 de cazuri. De remarcat că anticorpii antinucleari dau o imunofluorescență de tip pătat cu un antigen nucleoproteinic care nu este o nucleoproteină ADN; apar însă rar și imunfluorescențe de tip omogen. Mai recent s-a găsit un titru crescut de anticorpi anti-ARN (Alarçon-Segovia și colab., 1975). FR se găsește frecvent (22—50%), însă în genere cu titru scăzut și fără corelație cu manifestările articulare.

Nu există cercetări asupra CI circulante și asupra depunerii lor în leziuni. Leziunile glomerulare și arteriolare seamănă cu cele din nefroangioscleroza malignă, descrisă de Fahr, cu îngroșări de perete, fără alte elemente imune. Este foarte posibil ca leziunile cu aspect fibrinoid din vase să fie determinate de tulburări circulatorii prin hipertensiune sau ischemie și nu prin mecanism imunologic.

Terapia de corectare a tulburărilor imune este limitată deoarece acestea nu sînt cunoscute. În acest fel, tratamentul este mai mult simptomatic, anti-inflamator și corector al tulburărilor vasculare. Simpatectomia nu a dat rezultate; blocarea ganglionului stelat și perfuziile cu dextran au ameliorat fenomenele locale sau sistemice ale sindromului Reynaud. Se pot folosi droguri pentru a influența modificările colagenului, ca penicilamina. În formele active cu leziuni viscerale și cu semne de împrumut de alte boli imunologice (LED, PCE), corticoterapia și imunodepresivele trebuie încercate, putînd influența evoluția fără să afecteze bolile imunologice.

H. *Anemia hemolitică autoimună (AHAI)*

AHAI constituie prima boală autoimună descrisă (Vidal, 1908), ca „icter hemolitic prin autohemolizine", ca afecțiune hemolitică dobîndită alături de icter hemolitic congenital (Minkofsky-Chauffard) sau ca anemie hemolitică microsferocitară. Încă în 1904, Donath și Landsteiner descriseseră hemoglobinuria paroxistică „à frigore", cu autoanticorpi bifazici. In 1940, Dameshek și Schwarz contureaza mecanismul patogenic de boală

autoimună a AHAI. Prin descoperirea testului Coombs pentru AHAI cu anticorpi incompleţi, din 1945 se delimitează domeniul imunohematologiei, care se va lărgi după 1950 cu trombocitopeniile autoimune.

După 1960 s-au precizat mecanismele imune ale hemolizei, determinîndu-se mai ales rolul complementului pentru hemolizele intravasculare precum şi hemolizele intracelulare prin sechestrarea hematiilor sensibilizate cu anticorpi la cald sau la rece, în ficat sau splină.

În lucrări anterioare (Berceanu, 1968, 1975), fără a considera AHAI cu anticorpi la cald ca boală diferită de AHAI cu anticorpi la rece, am subliniat deosebirile serologice ca evoluţie clinică şi răspuns la tratament dintre ele ; Issit (1977) descrie separat AHAI cu anticorpi la rece ca o boală cu hemaglutinine la rece. Punctul nostru de vedere este împărtăşit de Brown (1977), care consideră ambele forme de AHAI ca diferite în funcţie de structura autoanticorpilor. Din punct de vedere clinic, în ambele forme hemoliza poate debuta brutal, dar şi insidios şi lent (Berceanu, 1975, 1977). Se recunosc de asemenea forme primitive şi forme secundare (Gheorghiu şi colab., 1973 ; Gologan şi Berceanu, 1979). În formele cu anticorpi la cald, evoluţia este mai blîndă şi în genere răspund bine la corticoterapie şi la splenectomie (Butoianu şi Berceanu, 1978) ; formele cu anticorpi la rece au însă o evoluţie severă, cu rezistenţă la tratament.

De multe ori este greu de precizat forma primitivă de AHAI, întrucît poate să fie modalitatea de debut a unei limfoproliferări maligne sau a altei boli autoimune, în genere LED. O altă particularitate pentru forma cu anticorpi la rece o constituie unele manifestări sistemice, ca sindromul Reynaud, precum şi unele recăderi brutale, cu hemoliză însoţită de fenomene generale anafilactice şi scăderea în cîteva ore a hemoglobinei pînă la 4–5 g%. Asemenea pusee sînt posibile şi în formele cu anticorpi la cald, precum şi în formele mixte cu anticorpi la cald şi la rece. Apar hemoglobinuria, o stare de colaps şi posibilă insuficienţă renală, în genere printr-un sindrom CID, aşa cum se întîlneşte mai ales la copii (Goldiş şi colab., 1978). Gravitatea este şi mai mare dacă se asociază şi trombocitopenia autoimună (sindromul Evans), asociaţie care trebuie distinsă de un sindrom CID, de anemia hemolitică microangiopatică sau de purpura trombotică trombocitopenică. Scăderea factorului de coagulare, prezenţa de hematii fragmentate pot să orienteze diagnosticul, ţinînd seama însă şi de o afecţiune de bază primară, ca LED sau o boală imunoproliferativă (Berceanu, 1977 ; A. Coliţă, 1977).

AHAI cu anticorpi la cald este mult mai frecventă (67–83%), pe cînd cea cu anticorpi la rece mai rară (12–30% sau chiar 5–7%) (Pirofsky, 1969 ; Bell şi colab., 1973). În statisticile franceze, formele cu anticorpi la rece constituie 35% (Habibi şi colab., 1974). În statistica noastră predomină cea cu anticorpi la cald, însă apar multe forme cu anticorpi micşti. Raportul dintre anticorpii la cald şi cei la rece este diferit pentru formele primitive şi formele secundare ; cum delimitarea acestora este dificilă, raportul apare variabil. În Europa, formele idiopatice au o frecvenţă de 45,70%, pe cînd în America frecvenţa ar fi sub 20% (Brown, 1977).

Pentru ambele forme, diagnosticul se precizează prin anumite investigaţii care conturează profilul lor imunoclinic (Brown, 1977) : (*1*) scăderea duratei de viaţă a hematiilor ; (*2*) prezenţa de autoanticorpi

specifici, fixați pe antigenele eritrocitare; (*3*) prezența acelorași autoanticorpi nefixați, liberi în ser; (*4*) autoanticorpii au aceeași acțiune pentru hematiile de același grup sanguin cu ale bolnavului; (*5*) hematiile sînt lizate în circulație dacă există și fixarea de complement; liza are loc dominant în splină pentru formele cu anticorpi la cald și dominant în ficat pentru cele cu anticorpi la rece; astfel că urmărirea sechestrării hepatosplenice a hematiilor marcate cu izotopi, ca și determinarea duratei lor de viață sînt necesare pentru indicația de splenectomie; (*6*) în perioada de hemoliză apar sferocite ca semn de hemoliză incompletă, cu fragmentare intracelulară care modifică raportul suprafață — volum (Berceanu, 1975).

Imunoserologia AHAI cu anticorpi la cald. Anticorpii la cald sînt incompleți, Ig ce se fixează pe hematii, și sînt detectați la 37°C prin testul Coombs direct pentru anticorpii blocanți pe hematie. Anticorpii liberi apar în ser la 38% din cazuri și sînt decelați prin testul Coombs indirect (Dacie și Worlledge, 1969), după tratarea hematiilor cu enzime proteolitice (papaină, pepsină). În hemolizele severe poate apărea un titru mare și se pot produce aglutinări directe sau chiar hemoliză dacă C este prezent la 37°C. În general, anticorpii liberi sînt de același tip ca cei blocați, care sînt și eluabili de pe hematii.

Analizele imunochimice după eluția anticorpilor la cald arată că sînt gamaglobuline de tip IgG sau, foarte rar, IgM sau IgA. Analizați după rezultatul testului Coombs cu ser antigama se disting 3 situații: (*a*) anticorpi blocanți tip IgG (50% din cazuri); (*b*) anticorpi blocanți tip IgG + C, care pot sau nu să dea un test Coombs direct pozitiv cu ser antigama; (*c*) anticorpi de tip nongama prin fixarea numai a fracțiunilor de complement (beta$_1$ E sau beta$_1$ C), care dau test Coombs direct negativ cu ser antigama, dar dau test Coombs pozitiv cu ser antinongama, adică cu ser specific anticomplement. Eluțiile după hematii din grupele *b* și *c* arată prezența de C fixat fie odată cu IgG, fie în absența IgG. Se admite că în absența IgG fixarea C se face printr-o activare fără anticorpi (Götze și Müller-Eberhard, 1971); poate exista și o fixare inițială cu Ig, urmată de desprinderea Ig de pe hematie, sau o fixare pe anticorpi IgM sau IgA desprinși de pe hematie. Aceste situații se pot întîlni în boli cu dereglări imune mai complexe în care se asociază și trombocitopenia, ca în unele limfoame maligne sau după sensibilizări la unele droguri ca alfa-metildopa. Cazuri de fixare de C singur s-au întîlnit în limfoame maligne și LED, unde IgG au o activitate mai redusă și se găsesc sub pragul de decelare prin testul Coombs.

Se știe acum că autoanticorpii au o specificitate pentru antigenele de grup sanguin diferită pentru anticorpii la cald și la rece. Anticorpii la cald IgG sînt anti-Rh în proporție de 38% sau chiar 70%, dacă se consideră și formele de Rh cu deleție de genă. Pentru anticorpii fără specificitate Rh s-au identificat specificități pentru hematiile Rh negative care ar conține numai antigenele LW (D-like) care ar fi precursori ai antigenelor din grupul H (Dacie și Worlledge, 1969; Eister și colab. 1970). Dacie și Worlledge arată combinații variate de IgG și complement,

acestea putînd ajunge pînă la 44%. Ca structură, anticorpii IgG sînt policlonali kappa și lambda, subclasa IgG_1 predominînd în proporție de 50–70%.

Legarea IgG pe hematie permite fixarea hematiei pe receptorii macrofagelor din splină. Macrofagele splenice nu leagă însă hematiile îmbrăcate cu C3b; acestea vor fi sechestrate în ficat prin macrofagele Kupffer cu receptori pentru C3b (Brown, 1977).

Sînt rare cazurile de AHAI în care nu se găsesc autoanticorpi decît prin testul Coombs direct sau indirect. S-a calculat că pentru detectarea lor trebuie să existe 250–600 molecule IgG pe o hematie, pe cînd hemoliza intracelulară după sensibilizare cu autoanticorpi necesită un număr mai mic de molecule IgG. Rezultă astfel că hematiile cu anticorpi legați sînt primele lizate. Pentru detectarea anticorpilor liberi se recomandă teste mai speciale, bazate pe consumul de anti-Ig (Rosse și colab., 1974).

Imunoserologia AHAI cu anticorpi la rece este bine caracterizată. După metodologia de lucru se disting anticorpi liberi în ser, care sînt IgM și se pot comporta fie ca antigene complete, fie ca aglutinine sau hemolizine. Prin testul Coombs se pun în evidență și anticorpi incompleți blocanți, care sînt globuline nongama sau ser specific anticomplement (fig. 33). În marea majoritate a cazurilor, anticorpii eluați sînt molecule IgM asociate cu fracțiuni de complement, C3b sau, mai rar, C3a și C3c (fig. 34).

Anticorpii se detectează cu concentrații foarte mari pînă la 10^{-6}. Testul la rece, în jur de 4°C, arată că aglutininele se comportă ca panaglutinine, producînd hemaglutinarea oricărui grup sanguin. În titruri mari pot să fie activi chiar la temperaturi mai înalte, pînă la 20°C, pe cînd în titruri mici sînt activi numai la 4°C; în condiții de fixare a C se comportă ca hemolizine, producînd hemoliză la 4°C, chiar cu un titru mai scăzut. După perioada de hemoliză dispar anticorpii IgM și rămîn fixați pe hematie numai fracțiunile de C. În ser, înainte și după hemoliză, se pot pune în evidență aglutinine sau hemolizine la rece ca anticorpi compleți. Cînd titrul este scăzut se pot detecta cu testul Coombs antigama indirect, mai ales după tratarea prealabilă a hematiilor cu enzime proteolitice.

În cercetările noastre am semnalat rolul C3 în hemoliza prin anticorpi la rece (Gologan și Berceanu, 1979). Issit (1977) a arătat modul de acțiune a C prin anticorpi tip IgM: fracțiunea C3b este cea activă în hemoliza intravasculară sau cu efect opsonizant în cea intracelulară, mai ales în macrofagele ficatului; subfracțiunile C3c și C3b au o fixare labilă, fără importanță în hemoliză. În unele situații se fixează un inhibitor al C3b, care blochează acțiunea acestuia și hematia nu mai este preluată de SRE, iar hemoliza devine latentă, cu pusee rare, concomitent cu negativarea testului Coombs cu anticorpi anticomplement (Issit și Issit, 1975, 1976). Testul Coombs apare negativ și în perioadele cu hemoliză intravasculară rapidă, datorită fixării excesive de C3b.

Natura specială a aglutininelor sau a hemolizinelor de tip IgM a fost bine studiată. Ca specificitate de grup, în majoritatea cazurilor anticorpii hemolitici la rece sînt izoanticorpi anti-*I*. Grupul sanguin *I* se găsește practic la toți indivizii; pe 22 000 de teste a lipsit în 5 cazuri care aveau grupul antigenic denumit *i*. Antigenul se găsește în cordonul ombilical

la toți indivizii, fiind apoi înlocuit cu *I* legat de grupul ABO. O situație specială există în AHAI pasageră după pneumonie cu micoplasma. Anticorpii sînt IgM anti-*I* biclonal, kappa și lambda. Micoplasma ar modifica structurile de membrană ale hematiei, astfel că antigenul *I* s-ar altera și hematiile n-ar mai fi recunoscute ca antigene self, apărînd anticorpi anti-*I*. Aglutinine anti-ID la rece policlonale se găsesc la toți normalii, însă cu un titru sub 1/64. Aglutininele din boala hemolitică au un titru mare și sînt atît anti-ID (antigenele hematiilor dezvoltate), cît și anti-IF (antigenele hematiilor fetale) (Issit, 1977).

Pe lîngă specificitatea anti-*I* există și o specificitate anti-Pr, care apare însă mai ales în hemoglobinuria paroxistică *à frigore*. Se disting de anticorpii anti-*I* prin tratarea hematiilor cu enzime proteolitice care cresc titrul anti-*I* și scad pînă la dispariție titrul anti-Pr. Anticorpii anti-Pr sînt atît IgM, cît și IgA.

De precizat că anticorpii anti-*i* apar după mononucleoză infecțioasă și, chiar dacă sînt aglutinabili la rece, au structură IgG. Incidența lor este însă rară, apărînd la 1–5% din cazuri, în genere fără boală hemolitică.

Fiziopatologia hemolizei autoimune (Berceanu, 1975) ridică două probleme importante : 1) natura dereglării imune și producerea de autoanticorpi antieritrocitari specifici sau nespecifici ; 2) mecanismul de liză al hematiilor *in vivo* prin autoanticorpi hemolitici.

1) *Natura dereglării imune* a fost sugerată prin conturarea cîtorva mecanisme :

a) Alterarea structurilor antigenelor eritrocitare prin infecții virale, droguri, toxine microbiene sau toxine endogene ca în uremie. Fiecare din acești agenți pot să activeze ca haptene și să inițieze o reacție imună cu formarea de anticorpi antieritrocitari. Acțiunea lor pe hematie poate să determine „demascarea" anumitor antigene, față de care există o toleranță slabă, și astfel să apară anticorpi specifici de grup ca anticorpi anti-Rh, anti-*I*, anti-*i* etc. Există cercetări care arată o activare a clonelor B printr-o scădere a activității Ts (Gran, 1972). Pe de altă parte, aceiași agenți inclusiv particulele virale persistente în organism pot să determine o scădere a toleranței, acționînd ca adjuvanți (Mitchinson, 1968). În plus, se știe că antigenele Rh au o toleranță slabă la nivel de limfocit T, deoarece nu sînt secretate în umori, iar concentrația lor pe hematie este redusă.

b) Ruperea toleranței, ca mecanism special în condiții de hiperimunizare sau la bolnavi cu deficit înnăscut de toleranță, unde apar dere-
glări imune mai complexe, explică asocierea AHAI cu alte boli autoimune.
Acțiunea antigenelor crossreactante, care pot să intervină în infecțiile
virale sau în evoluția unor tumori ovariene sau gastrice, determină produ-
cerea de anticorpi față de anumite antigene eritrocitare, iar acțiunea lor
îndelungată condiționează în plus scăderea toleranței imune.

c) Mutația celulelor imunocompetente prin proces de malignizare,
ca în limforeticulozele maligne sau în proliferările imunoreactive prelungite,
are două consecințe : apar linii celulare care, nerecunoscînd antigenele
proprii, reacționează față de acestea ; proliferează și devin active liniile
celulare considerate drept „clone interzise", care răspund de toleranța
genetică înnăscută.

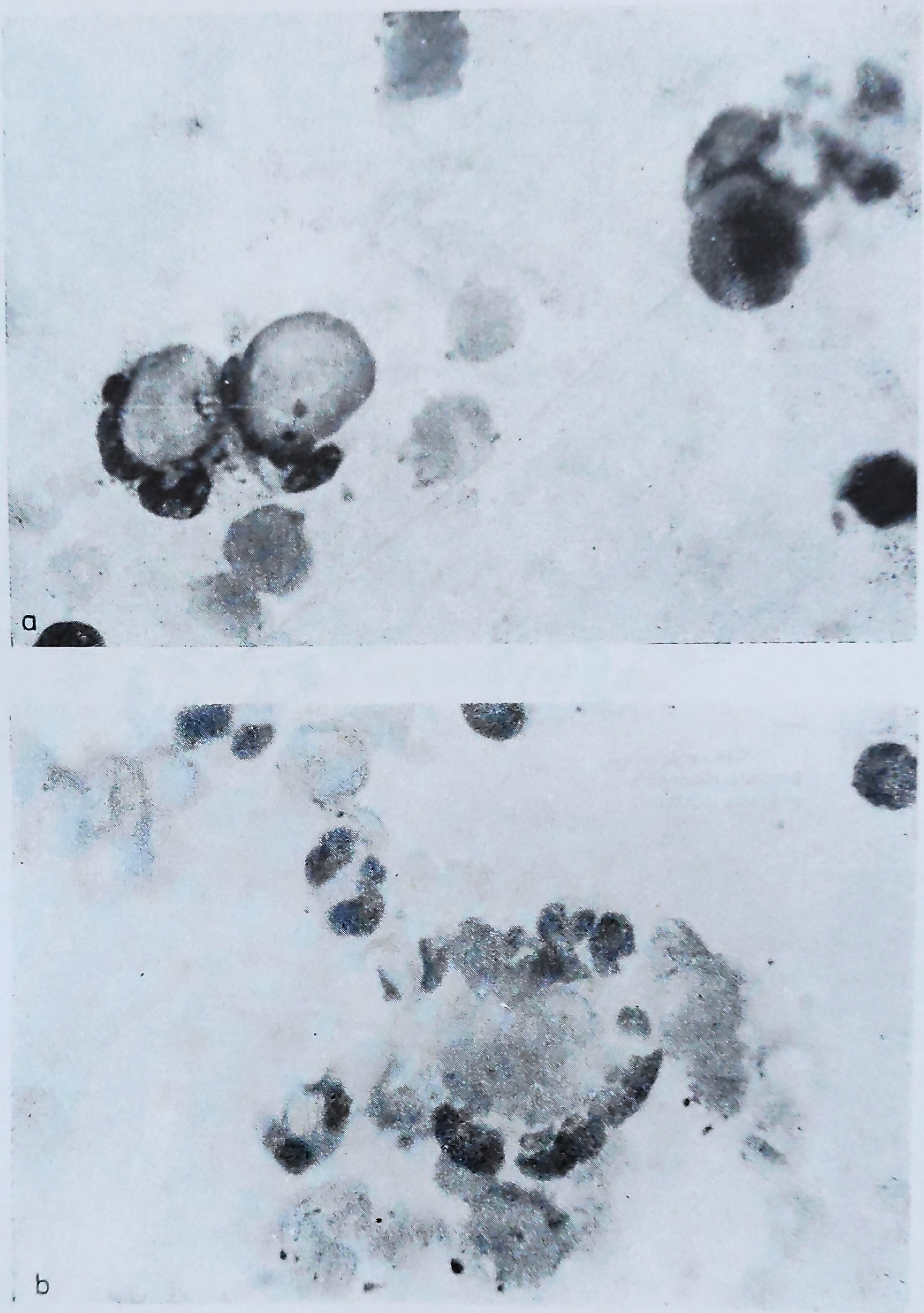


Fig. 30. — Imagini de celule lupice (*a*) şi de rozete (*b*).

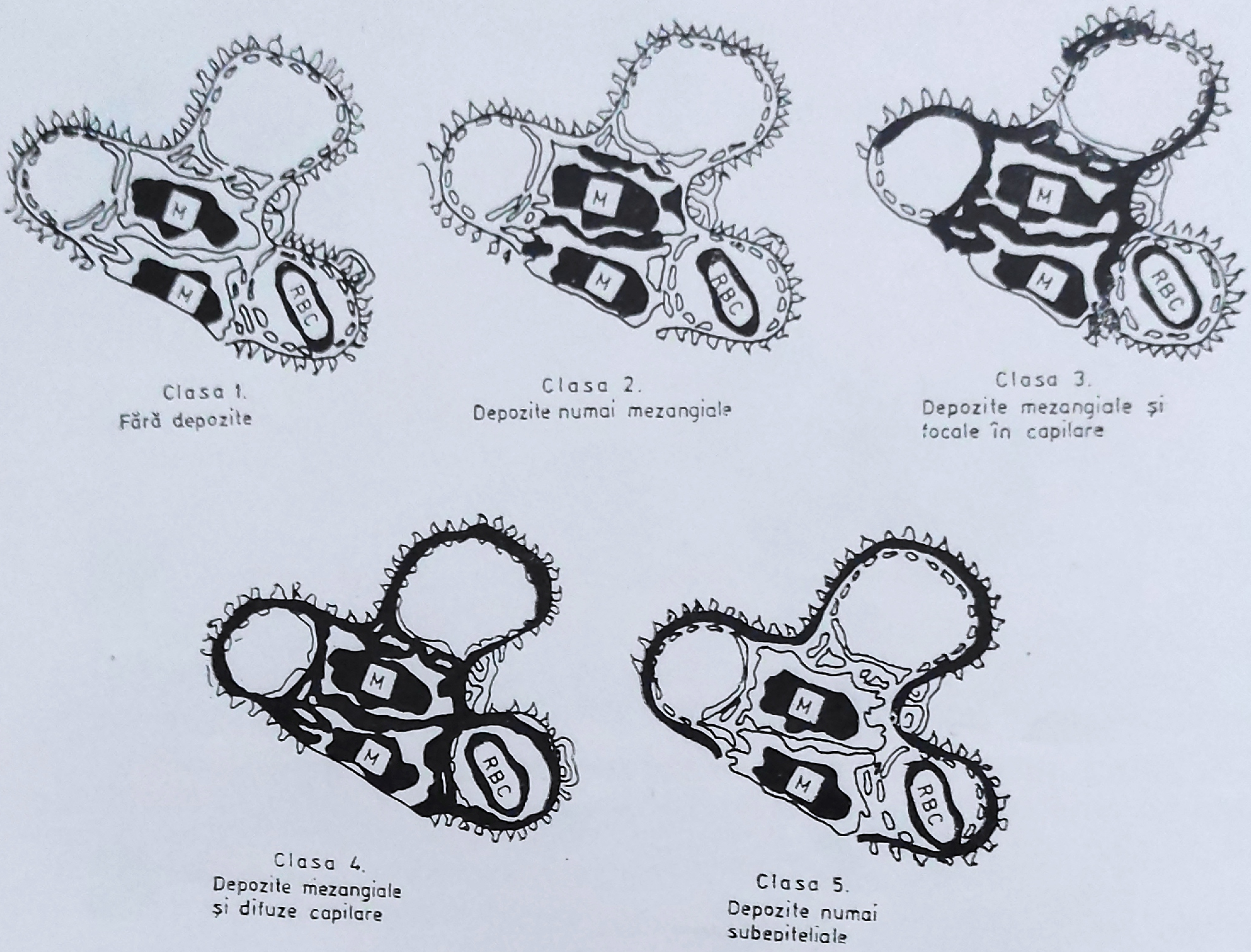


Fig. 31. – Schema leziunilor renale în lupus (după Hill, 1976).

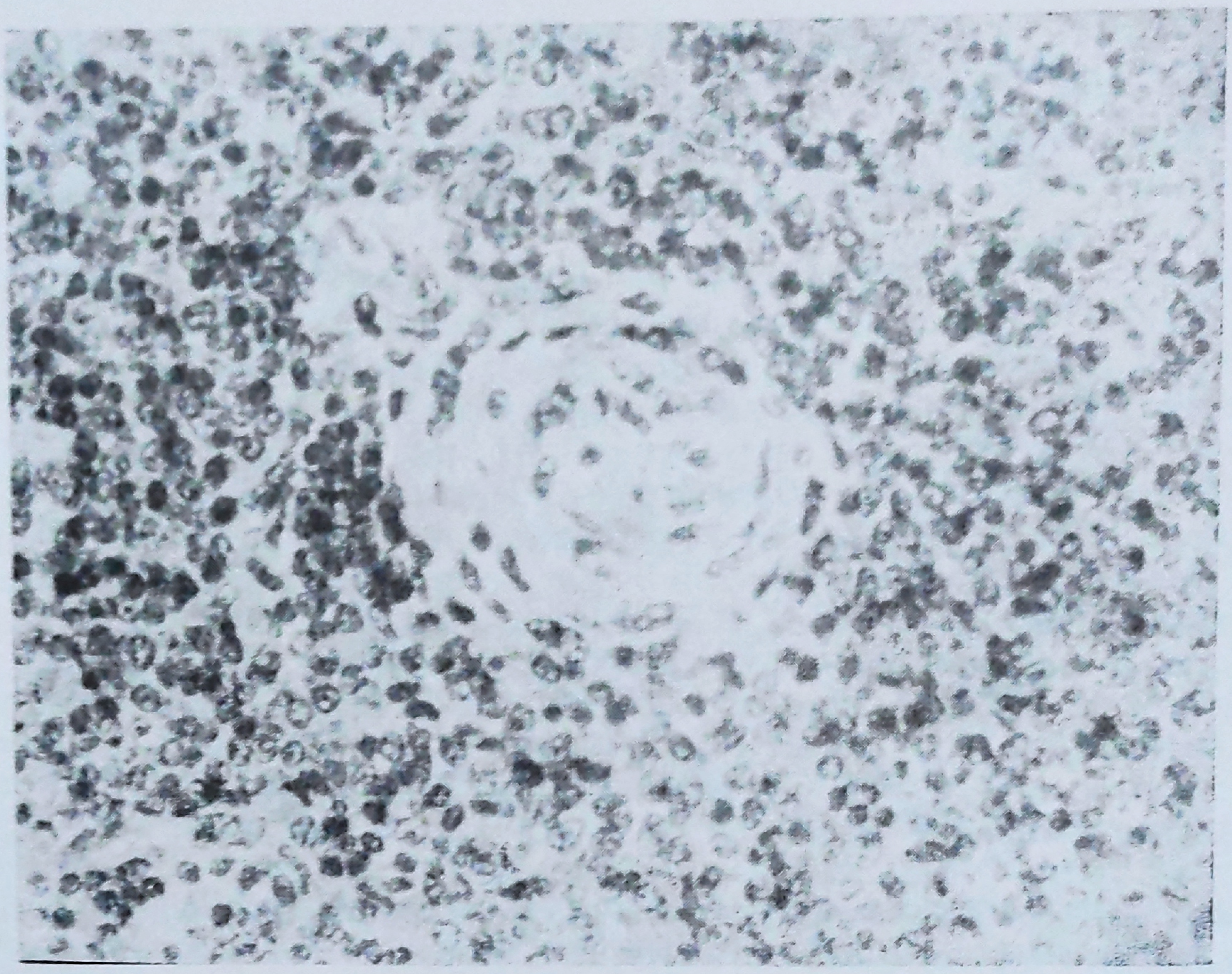


Fig. 32. — Leziuni ganglionare în „bulb de ceapă".

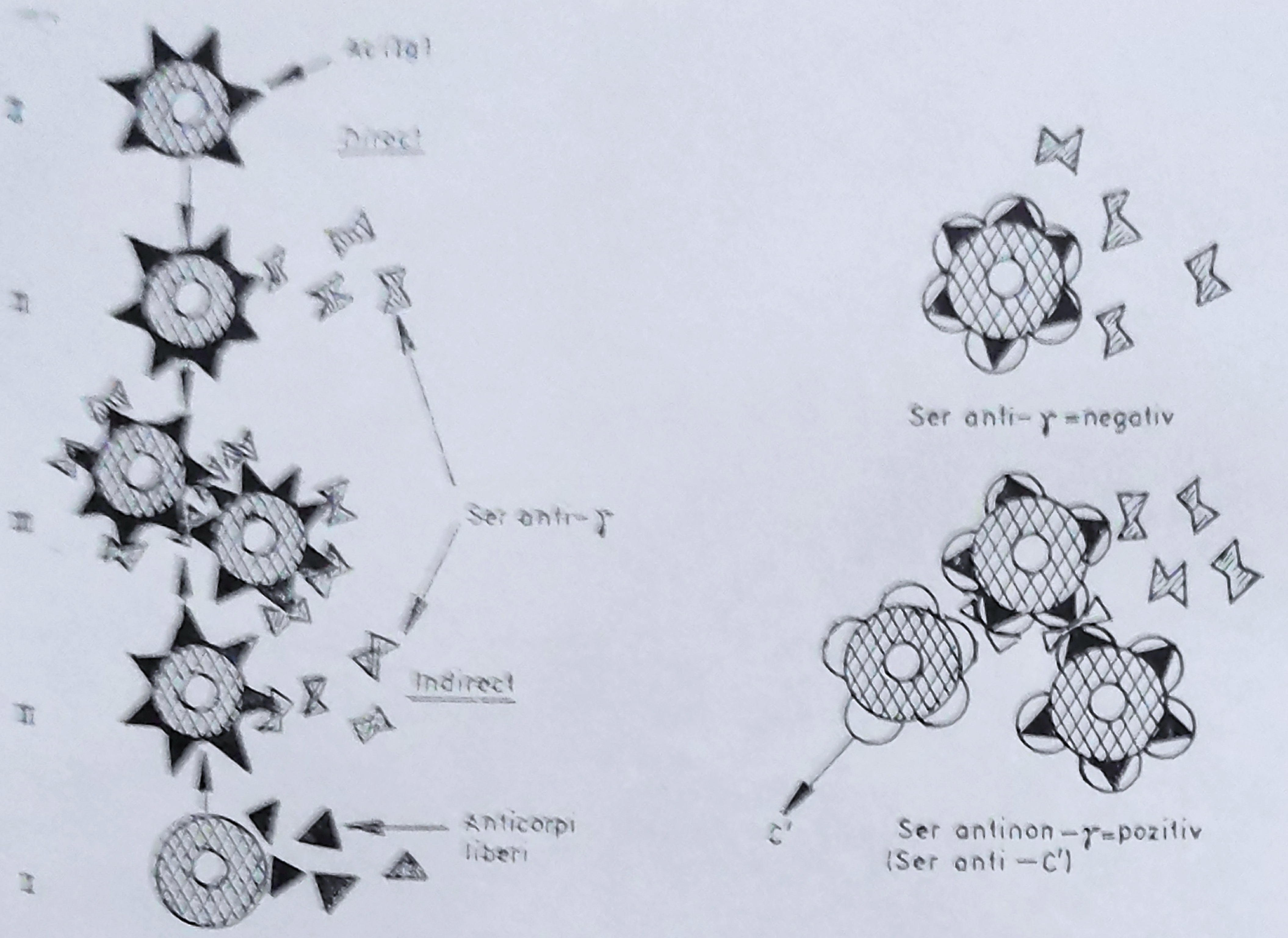


Fig. 33. — Schema reacțiilor din testul Coombs cu ser antigama (*a*) și ser anticomplement (*b*).

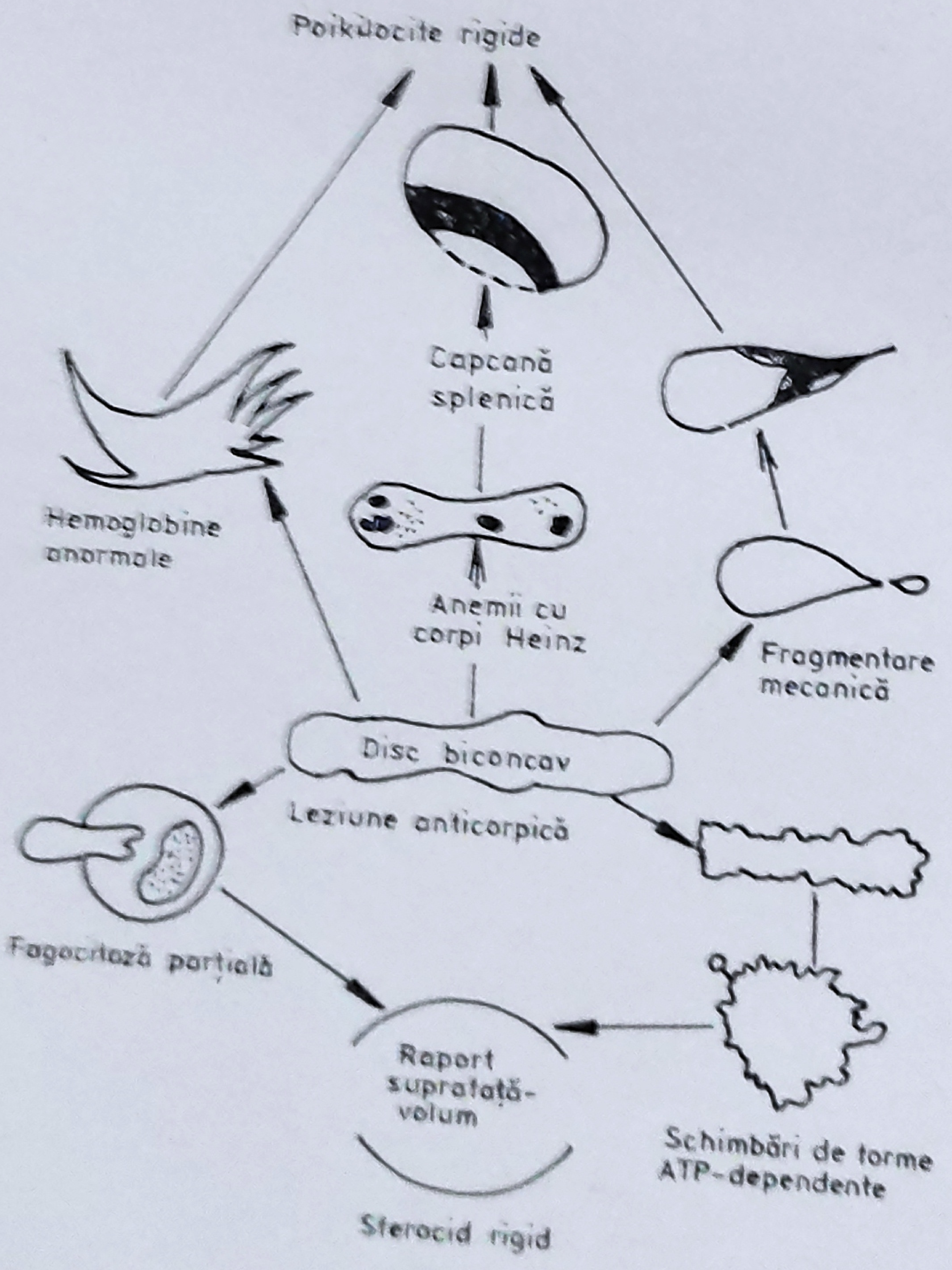


Fig. 34. — Schema mecanismului de hemoliză prin alterarea elasticității hematiilor și sechestrarea lor în organele hemolitice (după Weed, 1968).

În AHAI cu anticorpi la rece intervine de multe ori şi o creştere a aglutininelor la rece normale, condiţii în care se fixează C cu efect nociv pe hematie.

2) *Mecanismul de liză a hematiilor* este considerat ca citotoxic, prin acţiunea directă a anticorpilor compleţi pe membrană (tipul I de leziune după clasificarea Coombs şi Gell), cu sau fără fixare de complement. Leziunile prin anticorpi incompleţi sînt discutabile, întrucît există frecvent o stare de boală serologică cu test Coombs pozitiv, fără hemoliză şi cu durata de viaţă a hematiilor normală ; la o anumită concentraţie anticorpii incompleţi ar putea produce modificări de membrană, astfel că hematiile ar fi „sechestrate" în ficat, splină sau măduva osoasă, fiind distruse de către macrofage prin mecanism de hemoliză intracelulară. În cazurile în care pe membrana hematiilor se găsesc numai fracţiuni de C, nu se produce hemoliză, ci numai unele modificări de permeabilitate cu alterări ale raportului volum/suprafaţă, care diminuă elasticitatea hematiilor şi facilitează sechestrarea şi distrugerea lor (Weed, 1970).

Hemoliza intracelulară în organele de sechestrare se poate produce concomitent cu o hemoliză intravasculară cu crizele acute : apare hemoglobinurie concomitent cu eritrofagie chiar în sîngele periferic. Se poate ca acţiunea directă a complementului sau a anticorpilor pe membrană să producă nu o hemoliză totală, ci numai rupturi de membrană (Weed, 1970), fenomen care diminuă suprafaţa şi scade raportul faţă de volum. Tendinţa de sferocitoză apare după pierderea de suprafaţă a membranelor, creînd o scădere a filtrabilităţii şi plasticităţii hematiilor.

Principii de tratament. Metodologia diferenţiată pentru tratamentul AHAI a fost precizată anterior (Berceanu, 1978), pe următoarele principii :

1) Formele secundare se vor trata concomitent cu afecţiunea de bază (infecţii, alte boli autoimune, neoplazii generale sau ale SCI).

2) AHAI cu anticorpi la cald răspund bine la tratamentul cu prednison şi splenectomie pentru formele rezistente ; formele rezistente la splenectomie (5—10%) se vor trata cu imunosupresive.

3) AHAI cu anticorpi la rece urmează aceleaşi principii de tratament, însă fiind mai rezistente necesită imunosupresie prelungită, uneori toată viaţa.

În AHAI cu anticorpi la rece intervine de multe ori şi o creştere a aglutininelor la rece normale, condiţii în care se fixează C cu efect nociv pe hematie.

2) *Mecanismul de liză a hematiilor* este considerat ca citotoxic, prin acţiunea directă a anticorpilor completi pe membrană (tipul I de leziune după clasificarea Coombs şi Gell), cu sau fără fixare de complement. Leziunile prin anticorpi incompleţi sînt discutabile, întrucît există frecvent o stare de boală serologică cu test Coombs pozitiv, fără hemoliză şi cu durata de viaţă a hematiilor normală ; la o anumită concentraţie anticorpii incompleţi ar putea produce modificări de membrană, astfel că hematiile ar fi „sechestrate" în ficat, splină sau măduva osoasă, fiind distruse de către macrofage prin mecanism de hemoliză intracelulară. În cazurile în care pe membrana hematiilor se găsesc numai fracţiuni de C, nu se produce hemoliză, ci numai unele modificări de permeabilitate cu alterări ale raportului volum/suprafaţă, care diminuă elasticitatea hematiilor şi facilitează sechestrarea şi distrugerea lor (Weed, 1970).

Hemoliza intracelulară în organele de sechestrare se poate produce concomitent cu o hemoliză intravasculară cu crizele acute : apare hemoglobinurie concomitent cu eritrofagie chiar în sîngele periferic. Se poate ca acţiunea directă a complementului sau a anticorpilor pe membrană să producă nu o hemoliză totală, ci numai rupturi de membrană (Weed, 1970), fenomen care diminuă suprafaţa şi scade raportul faţă de volum. Tendinţa de sferocitoză apare după pierderea de suprafaţă a membranelor, creînd o scădere a filtrabilităţii şi plasticităţii hematiilor.

Principii de tratament. Metodologia diferenţiată pentru tratamentul AHAI a fost precizată anterior (Berceanu, 1978), pe următoarele principii :

1) Formele secundare se vor trata concomitent cu afecţiunea de bază (infecţii, alte boli autoimune, neoplazii generale sau ale SCI).

2) AHAI cu anticorpi la cald răspund bine la tratamentul cu prednison şi splenectomie pentru formele rezistente ; formele rezistente la splenectomie (5–10%) se vor trata cu imunosupresive.

3) AHAI cu anticorpi la rece urmează aceleaşi principii de tratament, însă fiind mai rezistente necesită imunosupresie prelungită, uneori toată viaţa.

VIII

Implicații imunologice în alte boli cronice

A. *Tulburări și mecanisme imunopatologice în bolile de ficat*

Revine lui Fissinger (teză de doctorat, 1908) meritul de a fi evidențiat pentru prima oară cercul vicios al autoîntreținerii leziunilor hepatice după o agresiune externă : „După ce a încetat intoxicația externă, continuă intoxicația internă . . . Pentru a se apăra pe sine însuși contra intoxicației prin produsele de degradare tisulară, organismul creează anticorpi, care cresc intoxicația și măresc leziunile. Bolnavul nu apără ficatul său, ci se apără pe el-însuși contra ficatului său". În felul acesta, Fissinger anticipează ceea ce mai tîrziu imunologia modernă va defini relația dintre self și nonself, răspunsul imun față de acestea și toleranța imună (Sherlock, 1970 ; Doniah, 1972 etc.).

Modelele experimentale au încercat să reproducă mecanismul întrevăzut de Fissinger : leziuni hepatice produse prin agenți toxici, ca tetraclorura de carbon (Iliescu și Berceanu, 1961 ; Berceanu și Iliescu, 1963), apoi urmărirea autoîntreținerii leziunilor prin reacția organismului față de primele leziuni.

Mult timp s-a incriminat intoxicația etilică cronică ca modalitate lezională primară, la care reacția organismului perpetuează leziunile de hepatită și ciroză. În ultimii 10 ani, descoperirea antigenului HBs ca factor de agresiune externă a constituit o încercare de a explica producerea leziunilor față de antigenul exogen nonself și rolul reacțiilor imune față de produsele de degradare hepatică. De asemenea, leziunile hepatice, observate după grefele de ficat experimentale sau chiar la om, ne-au oferit un alt model de studiu pentru leziunile de hepatită cronică. În mod similar, leziunile hepatice care apar în bolile autoimune, ca boala lupică, precum și determinările hepatice din febra galbenă, au constituit modalități adecvate de studiu pentru mecanismele imune.

Mecanismele imune hepatice observate pot fi sintetizate după următorul plan : (*1*) caracterele imunologice ale leziunilor hepatice ; (*2*) dereglările imune de bază, umorale și celulare, posibil cu dereglare genetică centrală ; (*3*) tulburările imunologice celulare și umorale declanșate de un anumit factor etiologic, care să explice autoîntreținerea hepatitei ; (*4*) argumente pentru o patogenie prin complexe imune, prin autoanticorpi sau prin agresiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate ; (*5*) valoarea investigațiilor imune și histopatologice pentru diagnosticul de boală imună hepatică.

Forma cea mai simplă de hepatită cronică este cea persistentă în care leziunile hepatice celulare sînt reduse la periferia lobulilor, predo-

minînd leziunile de infiltrație inflamatorie în spațiile porte. În genere, modificările imunoserologice sînt reduse, găsindu-se rar anticorpi față de structurile celulare și de mușchii netezi. Hipergamaglobulinemia este de asemenea rară, iar prezența antigenului HB este variabilă, de la absență pînă la 42% din cazuri (Buligescu și colab., 1974).

Hepatita cronică activă, cu elemente histopatologice și imunologice de agresivitate, este forma în care se pun în evidență mecanismele imunologice. Se definește ca o hepatită activă prin persistența semnelor clinice și serologice (hipergamaglobulinemie, transaminaze crescute, autoanticorpi) și a leziunilor hepatice pe o perioadă de cel puțin 6 luni (Popper și Mackay, 1972).

Leziunile hepatice sînt cele care dau caracterul de hepatită agresivă (De Groote și colab., 1968 ; Fodor, 1974) ; ele constau din intricarea infiltratelor inflamatorii cu cele de degenerescență celulară, cu dislocarea traveelor lobulilor hepatici. Este cunoscută leziunea de *peace-meal necrosis* clasică și în hepatita experimentală, constituind semnul de severitate și autoîntreținere (Iliescu, Berceanu și colab., 1961, 1962 ; Berceanu și colab., 1963, 1964 ; Popper, 1965, Berceanu, 1975). Infiltratele de limfocite din spațiile porte dislocă trabeculele la marginea lobulilor, separînd celulele hepatice încărcate cu material PAS-pozitiv diastazo-rezistent, înconjurate de limfocite, constituind fenomenul de „peripolesis" și „emperipolesis", mult discutat cu semnificație imună (Berceanu și colab., 1966, 1968, 1969). Materialul PAS-pozitiv a fost considerat ca CI cu rol citotoxic. În infiltratele celulare se găsesc numeroase plasmocite foarte active, precum și celule de canalicule biliare în hipertrofie și metaplazie. Noi nu am găsit însă material PAS-pozitiv în aceste celule, așa cum a găsit Popper, dar am găsit histiocite încărcate cu acest material și în activitate poliploidă cu formare de celule gigante.

Prezența antigenelor Australia în leziunile de hepatită agresivă ca și în ser delimitează o formă de hepatită cu antigen HB și o altă formă fără antigen. În ambele există o complexitate de tulburări imune, prima formă fiind determinată de prezența antigenului ca factor extrinsec de agravare, iar a doua cu aspect de boală autoimună cu prezența de anticorpi și CI, unele avînd caracter de hepatită lupoidă.

Hepatita cronică cu antigen HB este comună și apare după hepatita activă virală B, cu fază icterică sau anicterică. Prezența antigenului și a anticorpilor în ser determină sau se asociază evoluției bolii pînă în faza de ciroză. În particulele de antigen (particule Dane), învelișul extern constituie fracțiunea imunizantă care produce anticorpi pentru cele două tipuri de antigene, sferice și tubulare (Hirshman, 1974). Acești anticorpi detectează astfel structurile de suprafață care constituie antigenul HBs. Corpusculul din particulele Dane, denumit „core", este fracțiunea infectantă DNA, iar anticorpii specifici sînt anticorpii HBc (Almeida și colab., 1971). Se găsesc în nucleii hepatocitelor prin microscopie și prin imunfluorescență cu anticorpii respectivi din serul bolnavilor în evoluție agresivă (Gerber și colab., 1974).

În citoplasma celulelor se pun în evidență particule sferice sau tubulare prin anticorpi anti-HBs, care apar atît în hepatita cronică, dar și la purtătorii normali. Pot apărea și la microscopia optică ca incluziuni foarte evidente pe fondul clar al citoplasmei (Shikaka și colab., 1974). În formele

mai ușoare de hepatită cronică și la purtătorii particulelor HBs sînt mai frecvente și mai mari, ceea ce dovedește că nu ele sînt factorul de agresiune citotoxică, ci probabil reacțiile imune ale bolnavilor purtători de antigene. Anticorpii față de aceste fracțiuni nu s-au dovedit însă a fi citotoxici, întrucît apar și la purtătorii normali (Hoofvogle și colab., 1973).

Anticorpii HBc se găsesc aproape la toți bolnavii de hepatită cronică activă (Brzosko și colab., 1975). Prezența anticorpilor față de antigenele HB ar exclude prezența autoanticorpilor față de structurile celulare, care apar ca autoanticorpi în hepatita autoimună. Alte cercetări însă nu confirmă aceste diferențe serologice tranșante de hepatită cu anticorpi anti-HBs și de hepatită cu autoanticorpi (Vernace și colab., 1971 ; Bianchi și colab., 1972 ; Solowey și colab., 1972.)

Alte elemente imune caracteristice în hepatita cronică agresivă este creșterea de Ig serice cu caracter policlonal, predominînd mai ales IgG ca semn de agresiune. S-a discutat mult semnificația creșterii de IgG în hepatita cronică, ca și activitatea mai crescută în formarea de anticorpi. Se constată în special o creștere a anticorpilor față de bacteriile din tubul digestiv *(E. coli)*, ca și în hepatita toxică experimentală după tetraclorură de carbon și etionină (Iliescu și Berceanu, 1960). În condiții de agresiune hepatotoxică, aparatul de clearance al ficatului, celulele Kupffer, este depășit în funcția sa și astfel există o stimulare imună crescută a celulelor limfoide din ficat și din sistemul limfoid general. S-a constatat că funcția tolerogenă a ficatului față de anumite antigene și haptene introduse *per os* sau direct în sistemul portal diminuă în condiții de boală hepatică și astfel apar anticorpii (Triger și colab., 1972, 1973 ; Thomas și colab., 1973 ; Heraan și colab., 1974). În plus, produsele de necroză hepatică din hepatită și ciroză constituie un adjuvant care fac ca răspunsul imun față de antigenele scăpate de capcana kupfferiană să fie mai puternic, menținînd hipergamaglobulinemia.

Complexe imune s-au găsit atît în circulație, cît și în leziuni (Nowoslowsky și colab., 1972). În circulație, CI cu HBs s-au detectat prin metoda C1q (Nydegger și colab., 1974). S-au găsit de asemenea CI și în hepatocite, participînd posibil la structura materialului PAS-pozitiv din celule și din afara celulelor. Complementul apare frecvent scăzut în hepatita evolutivă, însă este foarte probabil ca scăderea să fie determinată de un deficit de sinteză pentru factorii care se sintetizează în ficat (C3 și C4), pe cînd factorul C1q nu scade.

Reactivitatea imună celulară ar explica mai bine leziunile de hepatită cronică prin antigene HB. În cercetări mai vechi s-a remarcat o stare de anergie la cirotici, cu reacții intradermice negative la anumite antigene, ca cel tuberculinic. Mai recent, s-a dovedit o scădere a sensibilizării de contact la DNCB, precum și o transformare blastică deficitară la PHA. Există, de asemenea, în serul bolnavilor un inhibitor al transformării blastice a limfocitelor normale care ar putea fi CI sau limfocitotoxine (Paronetto și Vernace, 1975).

Infiltratele limfocitare pot să disloce și să lizeze celulele hepatice, leziunile fiind comparabile celor din rejecția de grefă unde efectul citotoxic a limfocitelor T este bine dovedită. *In vitro* s-a observat o stimulare cu transformare blastică a limfocitelor bolnavului prin antigene hepatice.

Stimularea este posibilă numai cu anumite antigene, altele inhibînd transformarea blastică (Rider şi Violet, 1974). Sensibilizarea limfocitelor se dovedeşte şi prin testul MIF cu antigene de ficat, separîndu-se chiar două antigene dintre care unul din membrane celulare (Meyerzum şi Miescher, 1972). Intensitatea testului ar fi în funcţie de gravitatea bolii (Smith şi colab., 1972).

Pe lîngă această sensibilizare celulară de tip autoimun, s-a dovedit şi una faţă de HBs, atît în hepatita acută, cît şi în cea cronică. Testul MIF este cel mai des folosit (Gerbel şi colab., 1975), scăderea intensităţii sale fiind un semn de autoîntreţinere cronică; frecvenţa testului este însă foarte variabilă, de la 0 la 40% din cazuri (De Mauro şi colab., 1975). Un efect citotoxic asemănător cu cel bănuit *in vivo* s-a reprodus prin acţiunea limfocitelor asupra monostratului de celule hepatice cultivate. Ca şi în alte reacţii în cultură, serul bolnavului inhibă efectele citotoxice ale limfocitelor (Paronetto şi colab., 1975). Acţiunea citotoxică s-ar produce faţă de celulele hepatice infectate cu virus, astfel că devin celule străine, iar fenomenul seamănă cu reacţia de grefă contra gazdei.

Sînt puţine cercetări asupra alterării cooperării limfocitelor Th, Ts şi B. În formele grave de hepatită cronică şi ciroză scade populaţia globală de T (Bernstein şi colab., 1974). În hepatita acută cu antigene HBs s-au găsit scăderi de limfocite Ts şi creşteri de limfocite B, ca în stările autoimune.

În hepatita acută cu antigen HB, acesta, chiar dacă nu este toxic pentru celula hepatică poate declanşa reacţiile imune cu efect citotoxic. Celula hepatică infectată va fi lizată prin anticorpi, prin CI cu antigen HB sau mai ales prin limfocite sensibilizate. Complexele imune, deşi persistă în circulaţie, nu par să aibă rol citotoxic (Popper, 1965; Berceanu, 1975); CI circulante ar produce unele leziuni vasculorenale sau articulare, după cum sugerează detectarea lor în pereţii vaselor ca leziuni de panarterită (Nowoslowsky şi colab., 1972).

Hepatita cronică agresivă autoimună are ca model la om „hepatita lupoidă", după denumirea dată de Mac Kay (1956, 1974), care susţine un mecanism autoimun cu predispoziţie la femei, similar bolii lupice. Un argument în plus îl constituie asocierea frecventă cu antigenul HLA 1.8. şi HLA 8 (Mac Kay, 1972).

Dacă din punct de vedere histologic, în ficat leziunile sînt asemănătoare celor din hepatita cronică activă, dereglările imune sînt caracteristice pentru mecanismul autoimun în care nu se găseşte antigenul HB, iar corelaţia genetică cu unele antigene HLA nu este semnificativă (Golbraith şi colab., 1974).

Mecanismele autoimune în hepatita agresivă apar apropiate de boala lupică sau de sindromul Sjögren, fiind asociate cu alte boli autoimune: alveolită fibrozantă, colită ulceroasă, tiroidită etc. (Golding şi colab., 1971). Ca semne de boală hepatică activă, pe lîngă hepatosplenomegalie, există VSH crescut şi hipergamaglobulinemie uneori foarte mare.

O întreagă baterie de teste serologice atestă prezenţa de autoanticorpi specifici, fără specificitate de specie. Pentru diagnostic, au valoare anticorpii anti-muşchi neted, evidenţiaţi prin imunfluorescenţă cu serul bolnavului incubat cu perete gastric. Intensitatea reacţiei efectuată cu

diluţii de ser peste 1/10, concordă cu severitatea evoluţiei (Solowey şi colab., 1972). Reacţia este pozitivă şi în hepatita acută, în ciroza biliară primară şi chiar în astmul bronşic ; anticorpii sînt IgG, nu fixează complementul şi nu au nici o relaţie cu prezenţa de antigen HB (Halborow, 1972).

Anticorpii antimitocondriali sînt foarte frecvenţi, au valoare diagnostică pentru hepatita autoimună, însă nu şi prognostică. Se pun în evidenţă de asemenea prin imunfluorescenţă pe ţesuturi bogate în mitocondrii (mucoasă gastrică, glande salivare) ; reacţia de fixare a complementului nu dă rezultate concordante cu imunfluorescenţa. Aparţin tuturor claselor de Ig şi sînt specifici pentru o fosfolipoproteină din membranele interne ale mitocondriilor (Paronetto, 1976). Ca şi alţi autoanticorpi, apar şi în alte afecţiuni imune care dau reacţii fals pozitive pentru sifilis (Doniah şi Bert, 1971), precum şi în ciroza biliară primară.

Anticorpii antinucleari se găsesc şi în alte boli de ficat, inclusiv în cancer şi ciroză ; sînt anti-DNA nativ, anti-nucleo-proteină, cu formare de celule lupice, caracterizînd hepatita agresivă lupoidă care reprezintă, după Darnis şi Read (1975), 15—20% din hepatitele cronice. După alte cercetări, fenomenul LE nu ar constitui o formă specială de hepatită activă, ci numai un anumit grad de severitate.

Anticorpi cu caracter mai specific faţă de ficat au fost detectaţi prin teste de hemaglutinare pasivă şi RFC cu antigene integrale sau de membrană celulară (Hopf, 1974). Apar însă concomitent cu alţi anticorpi fixatori de complement faţă de multe antigene tisulare, care ar putea să nu fie anticorpi ci anumite proteine care fixează nespecific complementul. Ar exista însă şi anticorpi cu specificitate pentru ribosomii celulelor hepatice şi membrana celulelor la 20% din cazurile de hepatită activă. În cercetările noastre mai vechi, pe 500 de cazuri de hepatită cronică, am găsit la 20—25% din cazuri anticorpii faţă de antigenele solubile hepatice, iar în formele avansate spre ciroză cu mare disglobulinemie la 50—60% din cazuri (Iliescu, Berceanu şi colab., 1963). Cercetările experimentale par să arate că autoanticorpii specifici sau nespecifici cu antigene hepatice apar după o agresiune hepatică citotoxică, ca tetraclorura de carbon sau prin izoimunizare cu antigen Freund (Iliescu şi Berceanu, 1963). Anticorpii nu par să aibă un rol citotoxic, fiind fenomene secundare proceselor de liză hepatică. Este posibil ca reacţiile hiperimune faţă de antigenele microbiene intestinale să constituie un răspuns de adjuvant, cu posibilitatea scăderii funcţiei Ts şi astfel cu eliberarea clonelor B interzise care ar produce autoanticorpi în aceste condiţii. Nu este exclusă o declanşare a unor reacţii autoimune ca urmare a reacţiei imune faţă de un virion defectiv, prima apărînd faţă de produsele de degradare celulară prin acţiunea virionului infectant (Popper şi Mac Kay, 1972).

Factorii genetici ar condiţiona de asemenea un deficit celular de tip T ca în hepatita cronică cu HBs, însă cu o hiperimunizare a limfocitelor faţă de celula hepatică.

Mecanismul de dereglare care să conducă şi să menţină autoîntreţinerea leziunilor hepatice în ambele forme de hepatită nu este însă bine precizat. În înlănţuirea factorilor de dereglare imună este foarte posibil ca iniţial să existe un efect lezional cu producere de degradare celulară, care, cu antigenele virale, să autoîntreţină lanţul de reacţii imune. O reacţie imună iniţială pentru eliminarea antigenului HB rămîne probabil

neeficientă, fiind de presupus un deficit imun genetic specific sau căpătat prin însăşi infecţia virală. Leziunile iniţiale de hepatită acută, avînd în vedere că antigenele HB nu ar fi citotoxice direct, s-ar produce prin reacţie imună faţă de celulele hepatice infectate cu virus. Aceste reacţii iniţiale la non-self, pot deveni reacţii autoimune faţă de celula hepatică, ca ţintă a agresiunii antivirale. Mai departe, probabil reacţiile imune distrug celulele hepatice, în hepatita acută eliminînd şi virusul infectant. Aceasta pare să fie situaţia foştilor bolnavi cu hepatită acută nepurtători de antigen HB. Cei care devin purtători, după boală hepatică acută sau după o infecţie inaparentă clinic, capătă o toleranţă faţă de virus, dar şi o stare de echilibru care împiedică instalarea stării de boală ca efect al reacţiilor imune antiself sau antinon-self.

În boala cronică hepatică cu virus prezent, reacţiile imune sînt ineficiente pentru a-l elimina, astfel că se instalează o stare de hiperimunizare, cu hipergamaglobulinemie şi frecvent cu circulaţie de anticorpi şi CI ; se instalează concomitent reacţii agresive prin limfocite sensibilizate, care sînt o consecinţă a stării de hipersensibilizare cu persistenţă de antigen prin deficit iniţial de clearance.

În formele autoimune, la femei cu predispoziţie genetică, din primele reacţii faţă de virusul care poate să dispară se instalează o dereglare în sistemele Th şi Ts, care eliberează clonele interzise faţă de diverse antigene self, determinînd secreţia de autoanticorpi faţă de structurile hepatice şi nehepatice din forma de hepatită cronică fără antigen HB. Mecanismul autoimun, chiar dacă nu ştim cum s-a instalat, primează în aceste forme şi de aceea rezultatele terapeutice prin imunosupresie sînt evident mai bune decît în forma cu antigen HB, unde sînt contestabile.

Din punct de vedere practic, pentru clinician este necesar ca printr-o baterie de teste imunoserologice şi prin cercetarea antigenului HB să distingă forma autoimună propriu-zisă de forma cu antigen HB, pentru a institui o terapie imunosupresivă înainte de instalarea leziunilor ireversibile de ciroză. Ca pentru toate afecţiunile autoimune în care se presupune un deficit imun, perspectiva unei corectări biologice a acestuia va constitui o metodă terapeutică optimă.

B. *Patologia imună a neuropatiilor demielinizante*

Sistemul nervos central (SNC) şi reactivitatea imună. Cercetările experimentale mai vechi şi observaţiile clinice mai recente asupra neuropatiilor demielinizante au completat cunoştinţele asupra particularităţilor SNC ca ţesut în care se pot produce leziuni imune autohtone primare sau secundare altor afecţiuni imunologice sistemice. Aşa cum s-a arătat anterior (Berceanu, 1968, 1975), mai întîi s-a considerat că structurile mielinice sînt ţesuturi purtătoare de antigene sechestrate faţă de care există o toleranţă imunologică scăzută, avînd în vedere că procesul de mielinizare se produce în urma procesului de maturaţie imună. În al doilea rînd, bariera hematoencefalică prezervă SNC de agresiunea imună umorală şi celulară.

În SNC nu există un aparat limfoid autohton, găsindu-se numai rare limfocite și cantități foarte mici de Ig, lipsind complet foliculii limfatici și canalele limfoide. Prin plexurile coroide, membranele bazale vasculare normale ultrafiltrează plasma, condiționînd concentrațiile de electroliți, glucoză și proteine din LCR; aceste constituente ultrafiltrate se modifică în patologia imună inflamatorie și tumorală a SNC. Astfel, cantitățile de proteine totale plasmatice de 7,5 % g devin numai 20—40 mg % în LCR, iar raportul proteine sanguine/proteine LCR este de 200/l. Concentrațiile de IgG sînt de 1—4 mg/100 ml, de IgA 0—0,4 mg/100 g, iar celelalte Ig nu sînt decelabile în LCR normal (Holborow și Reeves, 1977).

Bariera hematoencefalică s-a văzut a fi mai labilă decît se credea înainte, fiind foarte sensibilă la orice reacție imunoinflamatorie care modifică permeabilitatea vasculară, astfel că SNC poate deveni un țesut de agresiune, modificîndu-și foarte multe constante umorale și celulare. Modificările și leziunile vasculare inflamatorii determină leziuni difuze sau locale în care se recunosc reacții de tip Arthus prin acțiunea CI. În plus, față de alte țesuturi, SNC este foarte sensibil la leziunile vasculare ischemice, producîndu-se modificări care după o scurtă perioadă sînt ireversibile.

Leziunile de tip reaginic sînt dovedite în SNC, deși există puține cercetări. Ca argumente sînt mastocitele din jurul vaselor, interstițiale și în special în meninge, ca și în tecile conjunctive vasculare ale nervilor periferici. Se explică astfel răsunetul pe sistemul nervos al reacțiilor anafilactice sistemice cu manifestări encefalitice în anafilaxie și după unele vaccinări ca reacții imediate umorale.

În bolile autoimune, ca LED și PAN, leziunile vasculare în creier și nervii periferici ce determină sindroamele neurologice din aceste boli, sînt posibile ca o consecință a pătrunderii factorilor imunologici agresivi în sistemul vasculoconjunctiv din creier.

În *neuroencefalitele experimentale*, induse după modelul clasic al lui Waksman (1965) cu antigene de creier în amestec Freund, ca și în encefalitele virale experimentale la șoarece, leziunile se produc prin depășirea barierei hematoencefalice, producîndu-se modificări imunoinflamatorii, ca și în alte țesuturi cu aparat conjunctivo-vascular normal. Cresc astfel imunoglobulinele — mai ales IgG și IgA, mai rar IgM — se produc infiltrate inflamatorii limfohistiocitare și granulocitare, precum și tromboze de vase cu necroze secundare în parenchimul nervos. Raportul proteine ser/proteine LCR exprimă gradul de permeabilizare a barierei hemato encefalice.

În cele două forme importante de *neuropatii imune* la om, scleroza în plăci și panencefalita subacută sclerozantă, s-a dovedit chiar o sinteză de anticorpi în SNC. Infecțiile virale localizate în creier stimulează limfocitele locale sau cele pătrunse din circulație și formează focare inflamatorii limfoplasmocitare cu producere importantă de anticorpi antivirali, care cresc în LCR concomitent cu cei pătrunși din ser. Există situații în care IgG din LCR are altă origine clonală decît IgG din ser, cu structuri diferite în lanțurile ușoare kappa sau lambda. Se dovedește astfel originea locală a limfocitelor generatoare de anticorpi în faze diferite de diferențiere care, împreună cu plasmocitele, se găsesc în manșoane perivasculare sau libere în LCR.

În *encefalita acută-experimentală* (EAE) se formează anticorpi circulanţi antivirali, care transferaţi la alte animale nu produc leziuni întrucît nu pătrund în creier. Pătrunderea lor poate fi facilitată de modificările de sensibilizare prin limfocite care, transferate, pătrund în creier după care apar și anticorpi determinînd leziuni cerebrale. Sînt posibile însă și fenomene de blocare a structurilor nervoase care astfel sînt protejate de acţiunea celulelor imune sensibilizate. Bornstein (1969) a dovedit acţiunea anticorpilor la om, urmărind efectele lor asupra influxului nervos în culturi *in vitro* cu ser de la bolnavii cu scleroză în plăci.

Asupra CI în SNC sînt puţine cercetări, chiar dacă apar leziuni caracteristice lor ca în encefalomielita acută hemoragică. Este sigur că pătrund în SNC din plasmă, în bolile prin CI ca LED, PAN, cardita reumatismală. Efectele sînt în genere trecătoare, ca în boala serului, dar și grave, ca în PAN și LED. Tulburările de coree după cardita reumatismală la copii sînt sechele după leziunile prin CI din perioada acută reumatismală. Nu există încă dovezi că neuropatiile demielinizante majore se produc prin CI formate local sau pătrunse din circulaţie. Mecanismele intricate în bolile imune neuropatice au fost studiate mai ales în boala encefalitică experimentală, iar la om în scleroza diseminată, în PESS și în encefalomielita hemoragică acută, în toate cazurile un rol important revenind infecţiilor virale.

Encefalomielita acută diseminată apare la om după vaccinarea antirabică și a fost reprodusă experimental de către Waksman (1965) prin injecţia de ţesut nervos izo- și eterolog în adjuvant Freund în laba posterioară a animalelor. Leziunile apar după 6—8 zile, iar semnele de paralizie după alte 1—3 zile. Urmărind limfocitele marcate cu timidină tritiată se stabilește că, după 5—7 zile de la injecţia în labă, se produce reacţia hiperplazică în ganglionii poplitei regionali; 80% din limfocitele mici își măresc volumul și sînt marcate cu timidină. Se produce transformarea bazofilă cu apariţia de „imunoblaști", care, prin diviziune, vor deveni noi limfocite mici, sensibilizate specific. Acestea trec în circulaţie și, depășind bariera hematoencefalică, pătrund în spaţiile Virchow-Robin, dispersîndu-se perivascular. Aici se produce din nou o proliferare imună cu apariţie de plasmocite, secreţie de anticorpi și leziuni specifice cu focarele de demielinizare. S-a arătat că iradierea ganglionilor regionali scade incidenţa producerii bolii; același efect îl are eliminarea ganglionilor după injecţie (Paterson, 1974). Problema care se ridică încă este explicarea mecanismului leziunilor după invazia celulelor sensibilizante în creier.

Avînd în vedere incidenţa mare a anticorpilor fixatori de complement s-a considerat că leziunile sînt produse prin acţiunea lor citotoxică. Lucrările lui Bornstein au pus în evidenţă efectul citotoxic al serului asupra culturilor de explante de ţesut nervos și în special asupra celulelor nevrogliale.

Încercările de a reproduce boala cu ser care conţine anticorpi fixatori de complement și citotoxici nu au dat rezultate. Boala însă a putut fi reprodusă prin transfer de limfocite sensibilizate, izolate din ganglionii animalelor care erau în plină activitate, imună, după injecţia cu ţesut nervos în adjuvant Freund.

Paterson (1974) a reuşit să dovedească rolul limfocitelor şi anticorpilor în producerea bolii. Concluziile sale sînt că anticorpii din circulaţie, transferaţi la normali pe cale sistemică, nu reproduc boala întrucît nu depăşesc bariera hematoencefalică; dacă se transferă limfocitele sensibilizate se constată că leziunile şi boala clinică nu apar decît după o perioadă de incubaţie, în care timp se produc anticorpi local, în SNC. Prin extrapolare la om, aceste date pot explica gamaglobulinele crescute numai în LCR din scleroza în plăci.

S-a dovedit că, după transfer de limfocite, apar leziuni şi se reproduce boala numai dacă limfocitele proveneau de la animale al căror ser posedă efect citotoxic asupra culturilor de ţesut nervos (Paterson, 1974). S-a dovedit apoi că anticorpii fixatori de complement sînt diferiţi de cei citotoxici. În culturi, serurile de anticorpi fixatori de complement nu au nici o acţiune toxică, pe cînd cele cu titru citotoxic mare sînt active chiar cînd nu conţin anticorpi fixatori de complement. Este remarcabil efectul demielinizant al serurilor recoltate după imunizarea animalelor cu antigen în adjuvant Freund, printr-un efect de umflare a celulelor gliale şi de demielinizare a fibrelor, cu alterarea axonilor.

Pe baza unor cercetări anterioare, care demonstrează păstrarea funcţiilor de conductibilitate nervoasă a substanţei albe *in vitro*, s-a dovedit alterarea acestei conductibilităţi sub acţiunea serurilor citotoxice (Bornstein şi Crain, 1965). Expunerea de scurtă durată şi apoi spălarea culturilor în mediu salin tamponat, înlătură efectul inhibitor asupra conductibilităţii nervoase, care aproape revine la normal.

Bornstein a obţinut acelaşi efect demielinizant *in vitro*, folosind seruri de la animalele imunizate şi de la bolnavi cu scleroză în plăci. În tabelul nr. 15 se observă efectul demielinizant în culturi produs de serul de la bolnavi cu scleroză în plăci. În formele active, rezultatele pozitive sînt predominante. Bornstein dovedeşte că leziunile se produc printr-o reacţie antigen—anticorp, cu fixarea complementului în CI, ca în orice reacţie imună reactivă capabilă să producă leziuni tisulare.

Neuropatiile demielinizante umane sînt expuse sintetic pornind de la tabloul reprodus după Paterson (Berceanu, 1975), care cuprinde 3 forme la care trebuie adăugată forma descrisă mai tîrziu ca în PESS. Dealtfel, cercetările mai recente par să arate că majoritatea neuropatiilor au o etiologie virală (tabelul nr. 16).

Pătrunderea virusurilor în SNC se face pe cale vasculară, depăşind bariera prin însăşi procesul inflamator viral. În afară de virusul rabic, infecţiile neurotrope prin progresie pe cale neurală de la locul de pătrundere sînt rare. Calea circulatorie are ca punct de plecare infecţiile rino-respiratorii (rujeolă, rubeolă, herpes simplex) sau tractul gastrointestinal pentru enterovirusuri. Este necesar un grad de viremie crescut pentru a se depăşi bariera hematoencefalică, după care virusul trece din capilare în creier, infectînd zonele irigate gliale sau din plexurile coroide în LCR. Bariera este însă suficient de puternică pentru ca infecţiile cerebrale virale să fie rare în raport cu cele sistemice din circulaţie (Holborow şi Reeves, 1977). În creier, virusurile pot avea un efect direct neurotoxic, multiplicîndu-se în celule pe care le distrug, după care infectează altele cu efecte grave imediate locale, cu necroze şi edem cerebral, în genere fără reacţie infla-

Tabelul nr. 15

Efectele serului de scleroză în plăci asupra culturilor de țesut nervos *in vitro* (după M.B. Bornstein, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1965, *122*, 280

Diagnostic clinic	Pozitiv	Negativ
Demielinizante:		
Scleroză multiplă : — activă	35	12
— activă (?)	12	18
— inactivă	1	37
Neuromielită optică	1	0
Nevrită optică	1	3
Scleroză laterală amiotrofică	9	6
Encefalomielită postvaccinală	1	2
Nedemielinizante:		
Normal	2	30
Boli ale SNC — acute și cronice	1	26
Neoplasm al SNC	2	0
Etiologie necunoscută	0	35

Tabelul nr. 16

Secvența modificărilor biologice din hepatită după infecție virală (după Krugman, citat de Holborow și Reeves, 1976)

Luni după expunere	1	2	3	4	5	6	7	8
SGOT				+	+			
DNA-polimerază			+					
Antigen HBs	+	+	+	+				
Anticorpi anti-HBc			+	+	+	+	+	+
Anticorpi anti-HBs						+	+	+

matorie. Apar însă și infiltrații limfocitare, anticorpi și poate CI cu virus, care pătrund din circulație în creier. S-a dovedit că reacțiile imune joacă rol important în distrugerea celulelor nervoase infectate și în diseminarea virusului.

În modelul experimental de coriomeningită la șoarece s-a dovedit că infecția virală indusă direct intracerebral poate să rămînă latentă la animalele nou-născute cu toleranță genetică pentru acel virus. O nouă inoculare la animalul adult rupe bariera hematoencefalică prin reactivitate imună, care în creier distruge celulele infectate și prin această reacție se produce boala acută prin leziuni cauzate de limfocitele sensibilizate.

La om, mecanismele pot să fie altele, diferite pentru formele acute și cronice. Reacția imună după stimularea prin infecția virală este sigur dovedită numai în encefalita acută postvaccinare virală antirabică și anti-

variolică, precum și după rujeolă, gripă și rubeolă. Este foarte discutabilă reactivitatea imună postvirală în formele cronice și subacute. În primele se produc leziuni acute de inflamație cu demielinizare redusă; în cele cronice și subacute, inflamația este redusă, pe cînd demielinizarea este leziunea constantă. Particulele virale nu s-au putut izola însă prin nici o metodă în niciuna din formele de neuropatii (Holborow și Reeds, 1977).

În *encefalopatia acută hemoragică* sau leucoencefalopatia acută necrozantă hemoragică, după unele prodroame în căile respiratorii, se instalează un sindrom neurologic fudroaiant, febră, prostrație și comă, paralizii și hemiplegii; în formele medulo-bulbare, paralizia respiratorie, asociată celorlalte simptome grave, determină moartea în mai puțin de o săptămînă. Există foarte rare cazuri de supraviețuire.

Encefalomielita acută diseminată descrisă mai sus ca boală experimentală constituie la om un gen de experiment al naturii, apărînd după vaccinarea antirabică sau antivariolică, dar și după infecții virale. Debutul este acut, ca de poliomielită, la 14—15 zile după vaccinarea antirabică și la 10—13 zile după cea antivariolică. În forma tipică postvirală, fenomenele cerebrale și medulo-bulbare se instalează brusc, chiar în cursul perioadei eruptive febrile. În formele postvaccinale s-au găsit anticorpi fixatori de complement, precum și limfocite sensibilizate, transformîndu-se blastic la antigenele encefalitogene concentrate din LCR.

Panencefalita sclerozantă cronică sau subacută este de asemenea un model de experiment al naturii în care s-a putut preciza deficitul imun de tip T față de virusul rujeolic (Adams, 1977; Burnet, 1971). Imunitatea celulară de tip T reacționează însă cu formare de anticorpi antivirali în concentrații mari. După Burnet, există o disociere între cele două sisteme, deficitul de T condiționînd proliferarea virusului rujeolic, care prin limfocitele infectate ajunge în SNC, unde se găsește ca incluziuni nucleare gliale și de unde s-a putut cultiva. Infiltratele plasmocitare bogate determină secreția de anticorpi care trec și în LCR și pot fi detectați prin RFC.

Scleroza multiplă sau scleroza în plăci este forma tipică de neuropatie demielinizantă cu evoluție lungă în pusee și perioade de ameliorare. Leziunile nervoase se instalează treptat și ireversibil, manifestîndu-se într-o primă perioadă prin tulburări motorii și senzoriale ale nervilor cranieni.

La necropsie, leziunile inflamatorii din faza tardivă sînt reduse și constau din focare de limfocite și macrofage în jurul venelor. Există macrofage încărcate cu lipide în plăcile demielinizante din substanța albă. Se pot pune în evidență la marginea acestora IgG și IgM, precum și complement.

În LCR apar elemente legate de leziunile din substanța nervoasă: la 25% din cazuri celule inflamatorii, ca limfocite, lipofage, plasmocite și neutrofile, care ca număr total sînt puține, cam 5/mm^3 (Lumsden, 1972). La 25—50% din cazuri, în genere coroborînd cu prezența celulelor, cresc concentrațiile de proteine, iar IgG crește și rămîne în platou chiar în perioada de remisiune.

Etiopatogenia sclerozei în plăci a fost poate mult studiată, fiind considerată ca o boală de autoîntreținere prin mecanism autoimun. Se știe că antigenele mielinice sînt constituite din proteina bazică encefalotogenă extrasă din țesutul mielinic, care este considerată „encefalitogenă”

întrucît produce EAE prin administrarea sa la animale în antigen Freund (Levine şi colab., 1970). Nu este însă o proteină omogenă, ci o substanţă complexă, cu mai mulţi factori encefalitogeni, care diferă între ei prin aranjarea secvenţială a aminoacizilor. Imunogenitatea ar fi legată de secvenţa triptofan—glicină—arginină sau lizină, aşa cum apare la cobai ; poate să difere la alte specii şi la om. S-a constatat că un compus al triptofanului cu bromura de nitrobenzil nu mai este encefalitogen, ci este protector. Proteina encefalitogenă produce EAE, declanşînd imunitatea celulară de tip T ; apar anticorpi fixatori de complement şi cu efect *in vitro* pe culturile de sistem nervos, blocînd conducerea nervoasă în sinapse. RFC se produce însă cu galactocerebrozidă şi nu cu proteină (Fry şi colab., 1974 ; McFerlin şi colab., 1975). Pare sigur că anticorpii nu au rol în producerea bolii demielinizante întrucît nu reproduc boala prin transfer. Boala se poate însă transfera la animalul normal prin limfocite T de la animalul tratat cu proteină. Testele de imunitate celulară (MIF, transformarea blastică şi IDR) sînt pozitive. Testele apar însă şi la animalele tratate cu fracţiunea imunizantă, ceea ce dovedeşte că aceasta este diferită de cea encefalitogenă.

Au fost separate 5 fracţiuni mielinice, dintre care numai 2 (C şi F) sînt encefalitogene. Există însă şi alte fracţiuni antigenice mielinice de tipul proteinelor anodice, ca şi unele fracţiuni lipidice care nu sînt encefalitogene însă intră în reacţie cu anticorpii din serul animalelor cu EAE sau produc reacţii imune fără leziuni de encefalită. Aceste fracţiuni neencefalitogene ar produce anticorpii fixatori de complement care ar avea rol protector pentru structurile mielinice, prezervîndu-le de acţiunea anticorpilor citotoxici sau a limfocitelor sensibilizate. Paterson (1965) susţinea un mecanism de feed-back al anticorpilor protectori faţă de anticorpii citotoxici care altfel nu s-ar mai produce.

În scleroza în plăci, Bornstein a găsit anticorpi cu acţiune *in vitro* pe ţesutul mielinic şi glial, care dau acţiune toxică prin fixare cu complement pe ţesuturi ca orice reacţie antigen-anticorp. Alte cercetări infirmă însă prezenţa de anticorpi cu acţiune citotoxică în scleroza în plăci, ca şi cea a anticorpilor cu acţiune specifică faţă de proteina encefalitogenă prin reacţia de hemaglutinare pasivă sau test RIA (Holborow şi Reeves, 1977).

Cercetările asupra imunităţii de tip celular, foarte bine dovedită în EAE experimentală, nu sînt concludente în scleroza în plăci. Sînt foarte discutate rezultatele lui Sheremata şi colab. (1974) asupra transformării blastice a limfocitelor faţă de un antigen concentrat prin centrifugarea LCR ; de asemenea, testul MIF a fost găsit pozitiv cu fracţiuni de proteină encefalitogenă de către Field şi colab. (1972) şi Alvore şi colab. (1974). Discrepanţele se explică prin complexitatea antigenelor în fracţiunile proteinice sau neproteinice, care pot fi encefalitogene sau imunogene, cu acţiune de sensibilizare imediată sau tardivă. Nu se ştie apoi care este concentraţia tolerogenă şi cea imunogenă a acestor antigene faţă de care toleranţa imunologică este slabă. Se explică cum traumatizaţii cranieni, cu descărcare de antigene mielinice în circulaţie, fac foarte rar scleroză în plăci sau alte afecţiuni demielinizante. Se citează astfel faptul că, pe 3 500 traumatizaţi de război, din care 45 % au făcut crize de epilepsie, niciunul nu a făcut

scleroză în plăci (Helborn, 1960). Este posibil ca, pe lîngă factorii imunogeni de proteină, să existe și alți factori care ar fragmenta proteina encefalitogenă inactivînd-o; această inactivare ar fi posibilă și prin CI.

Etiopatologia virală rămîne încă o ipoteză de cercetare. Se presupune la copil o infecție cu un virus atenuat („slow virus"), care produce leziuni lente prin instalarea mecanismelor imune față de celulele gliale infectate. Nu s-au găsit însă incluzii virale (formațiunile filamentoase considerate ca virus par să fie structuri de cromatină alterată). S-au găsit însă anticorpi antirujeolă în ser în concentrații mai mari ca la normali. De asemenea, în LCR anticorpii sînt în concentrații mult mai mari ca în ser la bolnavi, ceea ce ar dovedi sinteza lor în SNC (Narobi și colab., 1974).

La alți bolnavi însă s-au găsit anticorpi pentru alte virusuri, ca herpes simplex sau zona zoster, rubeolă, oreion. La cei cu anticorpi crescuți față de virusul rujeolic există o scădere a reacției limfocitelor față de antigenele acestor virusuri, demonstrînd o disociere între imunitatea umorală și celulară, ca cea din panencefalită. În genere, cercetările prin MIF și alte teste au arătat sensibilitatea redusă a limfocitelor T față de diverse virusuri (Zabriskie și colab., 1973). În plus, s-au găsit unele particule virale în creier, în splină și în serul bolnavilor, cu dimensiuni de 25—50 mm, între virusul rujeolic și cel polio. Se presupune că acest virus rămîne în stare latentă și produce anticorpi în perioada de boală. Apare ca un agent asociat care ar putea da boala prin reacție imună la persoanele sensibile (Henle și colab., 1968, 1975).

Determinanta genetică s-a cercetat și în această boală cu caracter imun, dar în care factorul etiologic și tipul dereglării imune nu sînt sigur demonstrate. Pe 1 000 de cazuri s-a găsit o predominanță mai mare de antigene HLA—A3 și HLA—B7, însă fără semnificație statistică în raport cu martorii sănătoși. Semnificația apare însă pentru antigene HLA—DRw2 care se găsesc la 70 % la bolnavi față de 16 % la normali (Bertrams și Kuweit, 1974). Avînd în vedere că EAE se produce la animale cu un anumit locus genetic, este posibil ca și scleroza în plăci să aibă o determinantă genetică legată de MHC. Frecvența mai mare în anumite familii și anumite zone geografice s-ar explica prin frecvența mai mare a anumitor antigene MHC. La rude, riscul pentru scleroza în plăci ar fi de 12—20 de ori mai mare decît la restul populației.

IX

Boli endocrine autoimune[*)]

În paralel cu studiul funcțiilor endocrine și al biochimiei secrețiilor hormonale, produșii de emergență ai glandelor, secrețiile și constituenții tisulari au alcătuit obiectul unor cercetări de imunologie însă de la începutul acestui secol. Aceste studii au generat conceptul bolilor endocrine autoimune și cu coeficient autoalergic, și de asemenea, un nou domeniu interdisciplinar, imunoendocrinologia (Simionescu și Berceanu, 1975).

Mecanisme ale apariției proceselor autoalergice glandulare. În reactivitatea autoimunitară glandulară sînt implicate patru categorii principale de componente și produse, dotate cu potențial antigenic : (*1*) componentele care intră în structura tisulară a glandei ; (*2*) componentele rezultate din sinteza în interiorul glandei și anume hormonii ; (*3*) produsele de emergență ale gonadelor : ovulul și spermatozoidul și (*4*) formațiuni specializate ale membranelor celulare — receptorii.

Pentru explicarea proceselor autoalergice glandulare intră în discuție, alături de autoantigenele glandulare, mecanisme ale reactivității imune umorale și celulare (fig. 35), precum și aspecte genetice.

Toleranța imunologică pentru secrețiile glandulare și pentru constituenții tisulari ai glandelor endocrine este stabilită în timpul vieții embrionare, aproximativ între săptămînile 6 și 8 ale vieții intrauterine. Nu este încă precizat dacă unii hormoni polipeptidici sintetizați de țesutul glandular embrionar sînt structural identici cu cei ai adultului. De exemplu, gonadotrofinele hipofizare, detectabile în circulația copilului prepuber la concentrații numai de cîteva ori mai mici față de adult, nu dezvoltă totuși nici un semn de sexualizare caracteristic pubertății. Pe de altă parte, unele țesuturi tumorale, deși sintetizează cantități mari de hormoni, dau un procent de molecule biologic active foarte mic, așa cum este cazul în sinteza ectopică de ACTH de către celulele cancerului bronhogen.

Ovulul și spermatozoidul apar tardiv, în viața postnatală (aproape de pubertate), astfel că toleranța imunologică nu se poate instala în mod obișnuit. Organismul este de aceea obligat să-și asigure bariere speciale pentru a evita contactul componentelor lor cu circulația generală („antigene sechestrate").

Pentru mecanismul de declanșare a proceselor autoalergice au fost emise trei ipoteze mai importante : (*1*) desechestrarea întîmplătoare a unor produse glandulare ; (*2*) reacții încrucișate întîmplătoare între componente autologe și eterologe ; (*3*) mutații somatice întîmplătoare cu apariția clonelor interzise (netolerante, reactive).

---

*) În colaborare cu dr. Ligia Simionescu.

În ceea ce privește glandele endocrine, sînt incriminate două mecanisme mai importante: (*a*) ruperea toleranței față de constituenții proprii (componente tisulare, produse de secreție și receptori); (*b*) reacția imună față de componente pentru care organismul nu a putut asigura o stare de toleranță întrucît erau menținute prin bariere în afara ciculației generale, de exemplu ovulul și spermatozoidul.

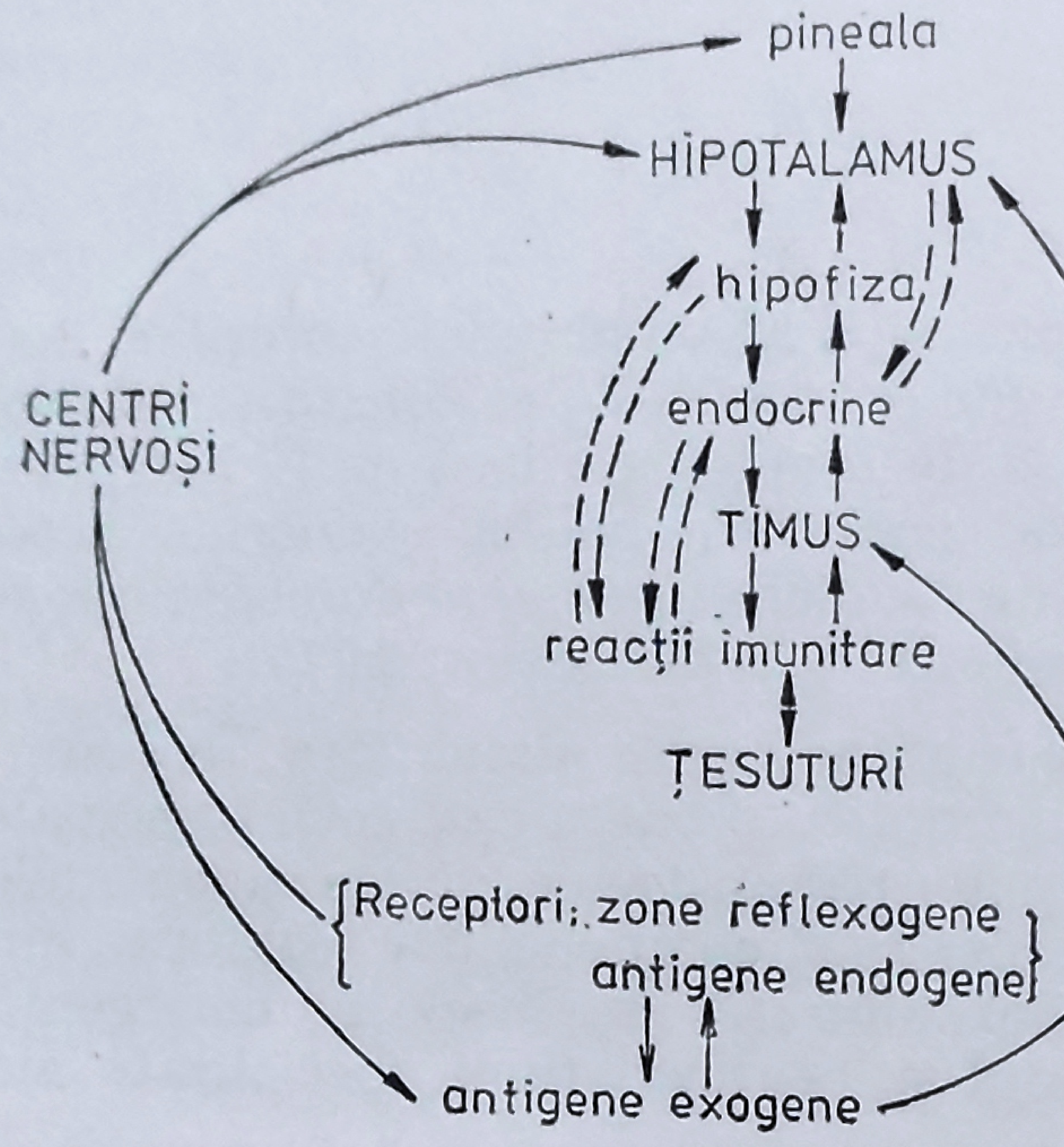


Fig. 35. — Interacțiuni ale sistemelor de reglare: nervos, endocrin și imunitar.

Funcția endocrină și procesele autoalergice. Analiza declanșării autoalergiei endocrine în corelație cu dinamica funcțională a glandelor relevă numeroase situații favorabile trecerii de la fiziologic la patologic. Astfel:

a) În circulația generală sînt prezente atît produse de secreție, cît și precursori și metaboliți ai acestora în concentrații care creează sau întrețin condiția de toleranță joasă (v. cap. III, E), de exemplu tiroglobulina. Starea de toleranță poate fi ruptă prin secreție intensă de tiroglobulină, ca rezultat al stimulării prin o serie de factori endo- și exogeni.

b) Starea de toleranță pentru hormoni se instalează în timpul vieții embrionare și este o *toleranță parțială*, adresată moleculei sintetizată în cursul vieții embrionare, care nu este în mod obligator identică cu cea sintetizată de glanda adultă (de exemplu, hipofiza fetală în cultură sintetizează dominant prolactină și nu hormon de creștere ca hipofiza adultă).

c) Factorul umoral (autoanticorpul) deține roluri multiple: limitează sinteza de IgG anticorpi de către celulele B, poate favoriza citotoxicitatea, inhibă (cazul anticorpilor anticorticosuprarenali), nu influențează (cazul anticorpilor antispermatozoid) sau stimulează (cazul anticorpilor anti-receptor tiroidian) țesuturile țintă, iar CI au rol de inițiere și de întreținere a leziunilor glandulare.

d) Factorul celular, ca celulele T, poate suprima activitatea celulelor B, pe lîngă activitate de cooperare.

Incidența mare la femei a bolilor endocrine autoimune, creșterea incidenței tiroiditelor în perioadele cu epidemie de gripă sau a orhitelor în cadrul epidemiilor cu virus urlian, frecvența mare a cazurilor de autoaler-

gie a unei glande în grupele de vîrstă cu solicitare maximă a unei glande, procesele autoalergice poliglandulare, frecvenţa familială a autoanticorpilor glandulari pledează însă pentru contribuţia unor coincidenţe a factorilor favorizanţi ai declanşării unui proces autoimun endocrin. De exemplu, protecţia faţă de autoanticorpi realizată de membrana bazală a celulelor poate fi anulată ca urmare a unor procese destructive la acest nivel. Examinînd solicitările mediului intern şi extern se observă că glandele endocrine sînt supuse unei mari variabilităţi în ceea ce priveşte intensitatea funcţiei de sinteză şi de secreţie în raport cu parametrul timp (tabelul nr. 17).

Tabelul nr. 17

Inventarul solicitărilor fiziologice exercitate asupra glandelor endocrine

Glanda	Solicitări uzuale din mediul	
	intern	înconjurător
Tiroida	menarcha ; ciclurile menstruale ; sarcina ; travaliul ; climacterium-ul	frigul ; efortul ; emoţiile
Corticosuprarenala	sarcina ; travaliul	stresul fizic şi emoţional ; supraalimentaţia ; efortul
Pancreasul	hiperglicemia ; hipercatecolemia	supraalimentaţia
Ovarul	ciclul menstrual ; sarcina	—
Hipofiza	ciclul menstrual ; sarcina ; travaliul ; creşterea somatică	efortul ; alimentaţia ; ritmul somn — veghe
Testiculul	?	?
Paratiroidele	creşterea somatică	alimentaţia (electroliţi)

Luînd *exemplul tiroidei*, pare plauzibilă următoarea secvenţă de evenimente. În mod *fiziologic*, în faza embrionară se instalează toleranţe, iar clonele tiroglobulino-reactive sînt eliminate (interzise). În perioada postnatală, pînă la vîrste înaintate, toleranţa este menţinută prin prezenţa unor doze mici de hormon în circulaţie şi, ocazional, a autoanticorpilor cu titru mic şi afinitate redusă (energie de legare mică). Virajul către *patologic* poate avea două surse mai importante : solicitările fiziologice (endogene şi exogene) şi solicitările patologice prin infecţii virale sau bacteriene. Ambele situaţii pot avea însă două consecinţe : dezorganizarea membranei bazale (rezultînd anularea efectului protector al acesteia faţă de autoanticorpii prezenţi în circulaţia generală în concentraţie redusă) şi eliberarea în circulaţia generală a unor populaţii moleculare de tiroglobulină insuficient diferenţiată. Asemenea molecule de tiroglobulină, diferite de matricea iniţială (care corespunde stării de toleranţă), pot fi rezultatul apariţiei unor molecule diferite, de exemplu, sub formă polimerizată. Această eventualitate duce la ruperea toleranţei, iar agregatele de tiroglobulină stimulează funcţia fagocitară a macrofagelor.

În concluzie, ca și în cazul bolilor autoimune ale altor organe și țesuturi, în bolile autoimune endocrine conceptul dominant este cel al „recunoașterii selfului" și diferențierea lui de ceea ce este străin, cu ajutorul unor mecanisme fine de discriminare.

Toate bolile endocrine autoimune au putut fi reproduse experimental, cu diferența că aspectul histologic este similar, dar nu identic, iar fenomenul de autoperpetuare nu poate fi reprodus.

Bolile endocrine autoimune (Adams, 1977) sînt definite ca boli cronice caracterizate prin : (*a*) specificitatea de organ ; (*b*) prezența autoanticorpilor circulanți și eventual a CI ; (*c*) infiltrații limfoplasmocitare în țesutul glandular ; (*d*) coexistența procesului autoimunitar cu întreaga gamă funcțională (hiper-, eu-, hipo-, sfîrșind însă adesea prin insuficiență)i (*e*) tendința marcată la asociere cu alte boli autoimune, endocrine și neendocrine, care dau un tablou clinic de sindrom de poliautoagresiune.

A. *Tiroidite autoimune*

Începînd cu anul 1956, studiul fiziopatologic al tiroiditelor intră într-o etapă nouă, etapa imunologică. Debutul noii etape este marcat de lucrările publicate de Witebsky și Rose și de Roitt și Doniach. Problema de fond este diferită față de etapa precedentă caracterizată, cu excepția lucrărilor lui Gh. Marinescu și A. Papazolu, prin încercări de obținere a serurilor antitiroidiene specifice.

Bolile endocrine autoimune sînt considerate cele mai tipice dintre tulburările autoimune și, în afară de om, apar spontan la mai multe specii de animale. Pe lîngă bolile tiroidiene autoimune tipice, ca boala Hashimoto, boala Basedow și mixedemul primar al adultului, hipotiroidia, status-ul postiradiere radioizotopică, neoplasmul sînt susceptibile să dobîndească un coeficient autoimun.

Autoanticorpii tiroidieni sînt în majoritatea cazurilor de tip IgG, dar au fost semnalate și tipurile IgA și IgM.

Mecanisme etiopatogenice în tiroidita autoimună. Tiroidita Hashimoto sau tiroidita limfocitară cronică a fost descrisă clinic și histologic de Hashimoto, în 1912, ca gușă cu aspect histologic special, care apare la femei de peste 40 ani, fără alterări importante ale stării generale. Este caracterizată clinic prin oscilații funcționale cu tendință la hipotiroidie, iar histologic prin infiltrații limfoplasmocitare difuze, cu apariția foliculilor germinativi, cu hiperplazie variabilă a colagenului interstițial și prin modificări degenerative oxifile ale epiteliului. Autoanticorpii antitiroglobulinici cu titruri foarte ridicate sînt prezenți în peste 80% din cazuri. În mixedemul primar al adultului, autoanticorpii tiroglobulinici sînt prezenți în peste 20% din cazuri.

Dintre ipotezele etiopatogenice, cinci sînt mai importante :

1) *Ipoteza antigenului „alterat"* a fost respinsă pe considerentul că autoanticorpii reacționează invariabil cu antigenul persoanelor normale. Totuși, un anticorp poate reacționa cu două tiroglobuline care prezintă diferențe structurale minore, de aceea studiul unor parametri, ca titrul și afinitatea, ar putea aduce unele clarificări. Experimental, de exemplu, s-a obținut tiroidită cu tiroglobulină omologă, izologă sau autologă fără

adjuvant, numai după ce s-a făcut o primă inoculare cu tiroglobulină eterologă, care dă reacție încrucișată cu tiroglobulina speciei inoculate.

2) *Ipoteza antigenului „sechestrat"* a fost exclusă ca urmare a observațiilor obținute la pacienții iradiați cu ^{131}I pentru tirotoxicoză. La acești pacienți, titrul autoanticorpilor tiroglobulinici crește numai dacă determinările preiradiere arată prezența lor. Mai mult, s-a observat că tiroglobulina în concentrații de ordinul a cîteva zeci de nanograme per ml este prezentă în serul tuturor persoanelor normotiroidiene (Roitt și Doniach, 1960; Simionescu și colab., 1978). Nu există însă studii care să arate în ce limite variază concentrația tiroglobulinei circulante în condiții fiziologice (de exemplu: sarcina) și asociat cu unele situații patologice favorizante (de exemplu: viroze, infecții etc.). Creșterea postiradiere a titrului autoanticorpilor tiroglobulinici poate să nu fie datorată eliberării tranzitorii a tiroglobulinei, ci creșterii sintezei și eliberării TSH, ca urmare a hipotiroidizării pacienților, deoarece s-a observat că administrarea exogenă a TSH la bolnavi cu tiroidită autoimună duce la creșterea titrului autoanticorpilor.

3) *Ipoteza infecțioasă.* Contribuția virozelor la apariția bolii tiroidiene imune este respinsă pe baza observațiilor obținute prin determinări ale autoanticorpilor în cursul epidemiilor de tiroidită virală (Adams, 1977). Numai în cazurile care aveau tiroidită imună, pre-existentă a crescut titrul autoanticorpilor tiroidieni. Pare să se impună ipoteza inițierii clonelor interzise în cursul infecțiilor bacteriene (Adams, 1969).

4) *Ipoteza genetică* pornește de la observația că majoritatea persoanelor nu pot dezvolta un răspuns imunologic la antigenele tiroidei proprii, oricît de intens ar fi stimulat antigenic. Anomalia, caracterizată prin capacitatea de a răspunde la antigenele tiroidiene proprii, ar fi ereditară. Defectul fundamental al bolii tiroidiene autoimune ar consta în apariția genetic-determinantă a clonelor interzise, reactive cu antigenele tiroidei, deci un defect moștenit al reglării toleranței imunitare.

Pentru validarea acestei ipoteze ar fi necesar să se știe dacă într-adevăr autoanticorpii tiroidieni apar atît de sporadic în populația normotiroidiană sau aceștia nu sînt detectabili cu metodele actuale. De exemplu, 6—8% din populația normotiroidiană (donatori de sînge) prezintă autoanticorpi tiroglobulinici detectabili prin reacția de hemaglutinare pasivă, ceea ce sugerează că la apariția bolii tiroidiene autoimunitare ar contribui unele aspecte cantitative.

5) *Ipoteza clonelor inactive* pleacă de la observația că procesul autoimun nu este prezent la naștere și apariția tardivă a bolii autoimune poate fi atribuită clonelor preinterzise, ca urmare a unor mutații somatice. Dacă este așa, atunci apariția bolii autoimune nu mai este datorată ruperii toleranței pentru că nu există mecanisme ale menținerii toleranței în viața postnatală. Posibil că toate clonele imunologice, cu excepția celor care reacționează cu antigenele de histocompatibilitate, rămîn inactive pînă la stimularea specifică cu un anumit antigen. Activitatea prin stimularea cu antigen implică și clonele interzise ale bolii autoimune.

Mecanisme etiopatogenice în tirotoxicoză. În cadrul bolilor endocrine autoimune, boala Basedow (tirotoxicoza) ocupă un loc special deoarece autoanticorpul nu are efecte distructive, ci stimulatoare.

Ativitatea LATS (stimulator de durată al tiroidei) a fost observată în serul unor bolnavi cu tirotoxicoză și se deosebește de activitatea stimula-

toare a hormonului tirotrop hipofizar prin parametrul timp determinat cu ajutorul metodei de captare-eliberare tiroidiană de ^{131}I la animalul pregătit prin blocarea hipofizei cu hormoni tiroidieni.

Efectul de eliberare a ^{131}I din tiroidă se observă la 3 ore după administrarea serurilor cu concentrație mare de TSH și la 16–17 ore după injectarea serurilor care conțin LATS (Adams, 1977). LATS este prezent în fracțiunea Ig serice. Scindarea Ig în lanțuri ușoare și grele a dus la pierderea activității, redobîndită după recombinarea lor, demonstrîndu-se astfel că activitatea de stimulare aparține Ig, deci nu este vorba de o substanță asociată.

Natura imunoglobulinică, activitatea de stimulare a tiroidei și reducerea activității LATS după incubarea cu țesut tiroidian sînt principalele argumente că *LATS este un autoanticorp*. Reducerea activității Ig LATS după incubarea cu țesut tiroidian, pe de o parte, și dispariția activității după fragmentarea moleculei în lanțuri ușoare și grele, pe de altă parte, arată că legarea la „receptorul-antigen" tiroidian este o funcție a *paratopilor* (porțiunile Ig care se combină cu antigenul).

LATS nu este totdeauna neutralizat prin contact cu țesut tiroidian, datorită unei alte Ig, numită *LATS-protector*, care competiționează cu LATS pentru determinanții antigenici tiroidieni. LATS-protector este considerat un *anticorp blocant* care apare numai la pacienții cu tirotoxicoză cu o incidență de peste 90%; în 30% din cazuri apare împreună cu LATS. Există o bună corelație ($r = 0,68$) între activitatea LATS și *radioiodocaptarea* (RIC) tiroidiană la pacienții cu tirotoxicoză.

Fenomenul de LATS-protecție este specific de specie. LATS are acțiune de stimulare asupra tiroidei de șoarece, dar acțiunea sa este anulată prin pretratare cu tiroidă umană și se redobîndește în prezența unui ser care conține LATS-protector. Acțiunea protectoare nu se manifestă însă decît în prezența omogenatului de tiroidă umană, LATS-protector neavînd nici o acțiune prin el însuși asupra tiroidei de șoarece.

Creșterea RIC la voluntari eutiroidieni perfuzați cu ser uman LATS-protector pozitiv este argumentul direct că LATS-protector este un autoanticorp (Adams, 1977). Totuși, acțiunea de stimulare funcțională a celulei tiroidiene după modelul stimulării prin TSH implică legarea la receptorul TSH cu ajutorul unei structuri prezentă probabil în paratopii Ig-LATS-protector și declanșarea unei secvențe de evenimente în care sînt implicate enzime care catalizează conversia adenozin-trifosfatului (ATP) la adenozin-monofosfat ciclic (cAMP). Structura LATS-protector care declanșează astfel de evenimente intracelulare ar trebui să fie similară cu, a TSH. Noțiunea de autoanticorp implică fenomenul legării la un autoantigen care în cazul LATS-protector ar trebui să fie receptorul TSH, dar și blocarea acestuia, nu stimulare, așa cum s-a observat cu alți autoanticorpi antireceptor insulinici (Flier și colab., 1978; Kahn, 1979) sau gonadotrofinici (Charreau și colab., 1979). De aceea pare mai plauzibil că Ig LATS-protector este un procorp TSH. O structură similară cu structura porțiunii bioactive a TSH poate apărea în cursul proceselor autoimune tiroidiene (tabelul nr. 18), așa cum s-a observat la imunizarea ovinelor și ecvinelor cu HCG (Cole și colab., 1975).

Din testarea activității de legare a LATS la receptorul TSH într-un sistem RRA pentru TSH(Manley și colab., 1974; Mehdi și Nussey, 1975)

rezultă că LATS se adresează aceleiași structuri a receptorului ca și TSH, așa cum arată curbele de inhibiție a legării TSH la receptorul partener. Dacă dislocuirea TSH prin Ig-LATS are loc datorită unei afinități superioarea LATS pentru structura receptorului antigen (caz în care Ig-LATS este un autoanticorp antireceptor TSH), atunci prin ce mecanism se declanșează stimularea activității celulei tiroidiene? De aceea o structură procorp TSH pare mai adecvată pentru explicarea acțiunii stimulatoare, rămînînd să se atribuie unei IgG calitatea de anticorp care se leagă la receptorul TSH dar cu efect inhibitor sau inactivă pentru sinteza hormonală.

Dacă sinteza procorpilor în cursul ripostei umorale la un antigen este reală, atunci conceptul diversității afinității și specificității anticorpilor se extinde la un nou parametru ; acesta ar cuprinde gama unor structuri care au la o extremă structura antigenului și la cealaltă extremă o structură perfect complementară. Descoperirea *zonelor hipervariabile* ale paratopilor Ig sugerează că organismul și-a asigurat asemenea capabilități de sinteză, dar sensul lor fiziologic rămîne să fie precizat, ținînd seama că Ig-LATS este uneori prezentă și în serul persoanelor normale.

Descoperirea *in vivo* a Ig-LATS și a Ig-LATS-protector și competiția ambelor *in vitro* în reacția cu receptorul TSH din tiroida umană justifică modificarea terminologiei. Astfel, denumirea de LATS-pentru Ig cu activitate stimulatoare prin metoda biologică la șoarece este înlocuită cu termenul MTS *(mouse thyroid stimulator)*, iar LATS-protector este înlocuit cu HTS *(human thyroid stimulator)*. Aceste denumiri distincte

Tabelul nr. 18

Imunitatea umorală în tirotoxicoză. Ipoteze asupra polimorfismului funcțional și structural al Ig

Antigen	Ig	Specificitate
Tg1 (produs de secreție al celulei tiroidiene)	autoanticorp autoprocorp ?	specificitate de organ ?
Receptor-TSH (formațiune la suprafața membranei celulei tiroidiene)	autoanticorp tip LATS (HTS)	fără specificitate de specie ; specificitate de organ ?
	autoanticorp tip inhibitor (HTI)	?
	autoprocorp tip LATS-p	specificitate de specie

nu exclud posibilitatea ca una și aceeași moleculă de Ig să dețină ambele activități. Întrucît în reacția *in vitro* cu receptorul TSH al tiroidei umane pot participa și MTS și HTS s-a propus pentru Ig care dislocă TSH de la receptor în RRA (fig. 36) termenul de anticorp tirostimulator al receptorului uman prescurtat (HR)-TSAC. (Adams, 1977). Întrucît calitatea de anticorp este discutată, acest ultim termen rămîne încă provizoriu.

Mecanismele implicate în apariția leziunilor imune tiroidiene se referă la tiroidita cronică și la tirotoxicoză. Ele sînt multiple :

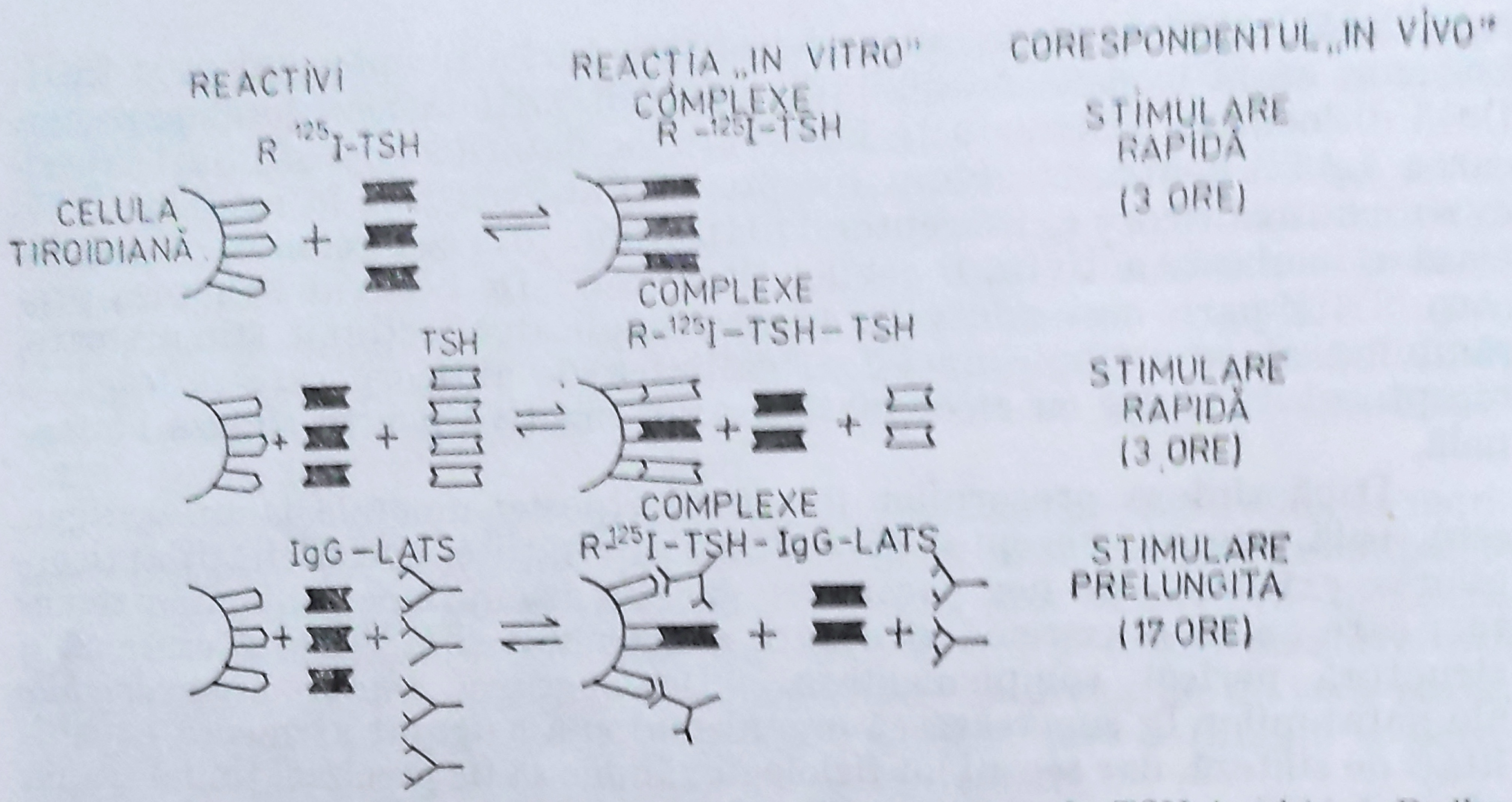


Fig. 36. — Competiţia IgG — LATS pentru situsurile receptoare ale TSH în sistem Radioreceptoranaliză (RRA) pentru TSH; ipoteză asupra corespondentului *in vivo*. R = receptor.

a) *Rolul autoanticorpilor tiroglobulinici* în etiologia şi patogenia tiroiditei Hashimoto, a mixedemului şi a bolii Basedow nu a putut fi demonstrat. Hipotiroidia, adesea întîlnită la subiecţi cu tiroidită limfocitară cronică, este compensată mult timp ca urmare a creşterii TSH şi măririi de volum a tiroidei. La persoanele eutiroidiene care au anticorpi circulanţi antitiroglobulinici, concentraţia TSH este în limite normale.

b) *Autoanticorpii antimicrosomali* sînt anticorpi fixatori de complement şi reacţionează cu fracţiuni microsomale ale tiroidei (Roitt şi Doniach, 1960) (membrane celulare, receptori ai suprafeţelor celulare). Localizarea la suprafaţa celulelor epiteliale tiroidiene a antigenelor care reacţionează cu aceşti autoanticorpi a fost probată prin imunfluorescenţă (Holborow, 1972). Spre deosebire de autoanticorpii tiroglobulinici, prezenţa autoanticorpilor microsomali corelează cu semnele histologice de tiroidită şi cu creşterea concentraţiei serice a TSH. Rezultă că celulatiroidiană are receptori atît pentru Ig cu rol stimulator al funcţiei, cît şi pentru Ig anticorp fixator de complement cu rol citolitic.

Celula tiroidiană care fixează la suprafaţă Ig-autoanticorp poate deveni o ţintă pentru limfocitele ucigaşe (killer).

c) *Complexele antigen-anticorp.* Patogenia complicaţiilor oculare în cursul bolii Basedow este încă în stadiu de ipoteză. Modificările ţesuturilor orbitale, numite cu un termen general exoftalmie, reprezintă unul din semnele patognomonice ale tirotoxicozei, dar pot apărea şi în absenţa HTS (LATS-protector) sau a fenomenelor de tiroidită. Sînt observate uneori şi la normotiroidieni.

Exoftalmiile observate în tirotoxicoză au fost clasificate în patru categorii (Adams, 1977):

1) *retracţia pleoapelor superioare* dă aspectul de privire fixă datorat probabil hiperactivităţii SNV, mediată de hormonii tiroidieni, deoarece exoftalmia se reduce de obicei odată cu normalizarea concentraţiei serice a hormonilor;

2) *inflamația conjunctivei* dă senzația de corp străin în ochi, vasele sînt dilatate și apare edem conjunctival (chemosis); cauzele nu sînt cunoscute dar edemul cedează la steroizi CSR în doze mici;

3) *proptoza* este caracterizată prin acumularea țesutului gras periglobular, în special înapoia globilor oculari; ținînd seama că adipocitele au receptori pentru TSH, s-a presupus că o mutantă somatică a HTS (LATS-protector) ar fi incriminată în apariția depozitelor de țesut grăsos; se presupune că edemul pretibial sau dermopatia tirotoxică este datorat acelorași clone interzise ca și cele care determină acumularea retroorbitală a țesutului gras;

4) *miopatia mușchilor extraoculari* duce la strabismul oftalmoplegic. S-a sugerat că apariția leziunilor musculare este mediată de complexe tiroglobulină — antitiroglobulină, care deci ar trebui să fie prezente și în serul pacienților cu oftalmoplegie.

d) *Factorul umoral și bariera placentară.* S-a observat că nou-născuții mamelor cu tirotoxicoză prezintă uneori fenomene de tirotoxicoză tranzitorie, care dispare în cîteva săptămîni dacă fătul supraviețuiește. Activitate MTS (LATS) și HTS (LATS-protector) a fost detectată în serul nou-născuților din mame al căror ser prezenta aceste activități. Tirotoxicoza nou-născutului se datorează transferului transplacentar al IgG matern. Întrucît nu au fost observate leziuni tiroidiene la nou-născut, s-a presupus că leziunea tisulară necesită prezența celulelor descendente din clonele interzise.

e) *Factorul celular.* Inițial a fost observată creșterea raportului limfocitar T/B în boala Hashimoto și în boala Basedow; observația nu a putut fi însă reprodusă prin folosirea de diferite metode de separare a limfocitelor.

Pornind de la ipoteza lui Burnet că boala autoimună este determinată de apariția clonelor interzise de imunocite, în cazul bolilor autoimune ale tiroidei a fost postulată existența a patru tipuri de astfel de clone: (*1*) stimulatoare ale tiroidei, care produc HTS (LATS-protector) și MTS (LATS); (*2*) agresoare ale tiroidei, care produc autoanticorpi antimicrosomali tiroidieni fixatori de complement; (*3*) exoftalmogene — probabil mutante somatice ale TSAb (IgG care reacționează cu receptorul TSH; (*4*) nepatogene, ca cele care determină sinteza autoanticorpilor tiroglobulinici.

Se apreciază că, dacă clonele antitiroglobulinei ar avea specificități similare cu celelalte trei tipuri de clone interzise, s-ar putea postula eventualitatea unei gene *V* comună pentru toate clonele reactive în bolile autoimunitare ale tiroidei.

f) *Factorul genetic.* Prezența HTS (LATS-protector) și în absența MTS (LATS), dar niciodată invers, a generat ideea că MTS reprezintă o mutantă a HTS. Ambii reacționează cu receptorul TSH, dar numai HTS stimulează celula tiroidiană umană, sugerînd că paratopii sînt similari, dar complementaritatea MTS pentru receptor nu este suficientă pentru a declanșa cascada de evenimente care au ca final stimularea secreției hormonilor tiroidieni. Se presupune că diferența între HTS și MTS ar putea fi rezultatul unei mutații somatice punctiforme în una din genele *V*.

g) *Evoluția tirotoxicozei.* La întreruperea terapiei cu antitiroidiene de sinteză aproximativ 50 % din bolnavi au o perioadă variabilă de remi-

siune, timp în care probabil că HTS (LATS-protector) scade la un nivel subpatogen, dar cel mai deseori fenomenele clinice reapar; sînt citate și cazuri cu evoluție spontană spre insuficiență. Se presupune că clona intersă HTS, rămasă latentă în perioadele de remisie poate fi stimulată prin intervenții agresive minore; invazii virale subclinice, urmînd stimulare antigenică cu receptor TSH al țesutului lezat și astfel pot apărea reșutele.

După Adams (1977), explicația remisiunilor și reșutelor constă în absența sau prezența clonelor agresive pe lîngă clonele receptorului TSH:

Clonă HTS latentă + clonă agresoare → reșute

Clonă HTS latentă — clonă agresoare → remisiune

h) *Asociația tiropatiei autoimunitare cu alte boli autoimune.* Sînt semnalate două tipuri principale de asociații: boală tiroidiană autoalergică cu boală autoimună a altei glande sau organ și asociații ale bolii autoimune cu autoanticorpi pentru alte organe și țesuturi (tabelul nr. 19).

Asociația cea mai frecventă a autoalergiei tiroidiene este cu autoanticorpi antifactor intrinsec. Explicația se bazează pe unele asemănări embriologice și funcționale, și anume: tiroida derivă din tractul intestinal superior, iar celulele mucoasei gastrice au capacitatea de a concentra iodul.

Tabelul nr. 19

Anticorpii țesuturilor glandulare

Glanda	Antigenul	Metoda		Efectul autoanticorpilor
		TIF	RFC	
		+	—	—
Tiroidă	tiroglobulina	+	+	distructiv
	fr. microsomală	—	—	stimulator (IgG
	receptor-TSH ?			procorp ?)
		+	+	?
Mucoasa gastrică	factorul intrinsec	+	+	?
CSR	fr. microsomală	RIA*		stimularea
Pancreas (beta-celule)	fr. subcelulare			celulelor beta
	insulina	RIA		?
Testicul (celule Leydig)	?			
		+	+	?
Ovar (celule granu-	?			
nuloase)		+	+	?
Hipofiza anterioară	?	+	?	?

* RIA = radioimunoanaliză

? = nu se cunoaște

Tiroidita autoimună experimentală (**TEA**) a fost indusă la maimuțe și la o serie de specii de subprimate: șoarece, șobolan, cobai, iepure, cîine și găini (Doniach și Roitt, 1975). Aspectele histologice (infiltrații limfoplasmocitare) și serologice (anticorpi tiroglobulinici și antimicrosomali) sînt similare tiroiditei Hashimoto, dar nu s-a obținut caracterul autoperpetuant al bolii. Rezultă că modelele experimentale folosite au realizat ruperea toleranței la antigenele proprii, fără să realizeze și menținerea acestei stări. Deseori se obțin autoanticorpi tiroglobulinici fără leziuni ale tiroidei.

TEA a fost realizată prima oară la iepure prin inocularea tiroglobulinei omologe inclusă în adjuvant Freund complet (AFC). Imposibilitatea ruperii toleranței prin inocularea numai de tiroglobulină (intactă, autologă, izologă și omologă), în absența AFC, a generat o serie de alte modele, experimentale în care tiroglobulina a fost administrată împreună cu LDS (Esquinal, 1976), sub formă de CI (Habicht și colab., 1975).

Răspunsul la *tiroglobulină* (Tgl) este un răspuns timus-dependent, așa cum rezultă din faptul că reconstituirea răspunsului la Tgl eterologă în cazul șoarecilor timectomizați și iradiați letal, se poate realiza cu o combinație de celule din măduva osoasă numai în prezența de timocite sau celule splenice.

Răspunsul imun la Tgl în cazul TEA înseamnă pierderea capacității de recunoaștere specifică a determinanților antigenici ai Tgl. Încercarea de a acredita ipoteza tiroglobulinei „sechestrate" a fost respinsă pe baza unor rezultate experimentale și deducții teoretice.

Animalele cu tiroidectomie totală nu produc autoanticorpi la inocularea cu tiroglobulină autologă nemodificată. În schimb, modificări structurale minore ale tiroglobulinei (sulfonare, arsanilare) pot declanșa producere de autoanticorpi.

Celule din noduli limfatici de la animale normale produc în cultură autoanticorpi dacă sînt stimulate numai cu tiroglobulină. Rezultă că celulele angajate să producă anticorpi tiroglobulinici nu sînt active în mod normal, deși există și pot fi activate prin încărcare adecvată cu tiroglobulină și deci clonele reactive cu tiroglobulina nu au fost eliminate în viața intrauterină.

S-a mai observat că mici cantități de autoantigen circulant pot duce la eliminarea celulelor T; astfel, la normali (animal și om), celulele B reactive cu Tgl sînt prezente în sîngele periferic, dar intră în acțiune numai cînd sînt disponibile celule T adecvate.

Inițierea producerii de autoanticorpi antitiroglobulinici a fost pusă pe seama mai multor mecanisme diferite. O primă ipoteză, care incrimina tiroglobulina în calitate de *antigen*, a fost respinsă întrucît această substanță influențează numai unul din cele două tipuri de limfocite cooperante, ceea ce favorizează tocmai lipsa de răspuns imun. Alte mecanisme, ca cele *homeostatice* de tip feed-back negativ pot contribui la inhibarea producerii anticorpilor fie prin exces de antigen, sau prin CI, fie prin reacție antiidiotip sau prin necooperarea unei subpopulații de limfocite T. Intervenția *antigenelor MHC* (v. cap. I, E) a fost luată în considerație ca urmare a demonstrării unei corelații între aceste antigene și răspunsul autoimun la Tgl izologă la șoareci inbred și găini obeze. În sfîrșit, procesele de *reglare a răspunsului imun* trebuie luate în discuție deoarece sindroamele autoimune tiroidiene se însoțesc adesea de alte boli autoimune, consecință a unui defect în reglarea imună. Deficitul funcțional timic antrenează o sensibilitate crescută pentru un răspuns autoimun la Tgl.

Unul din factorii determinanți ai răspunsului imun fiind controlat genetic (v. cap. I, E), numeroase cercetări au putut demonstra — la șoareci NZB și găini obeze — influența genelor de răspuns imun (*gene Ir*) asupra capacității de recunoaștere a Tgl.

Printre membrii unei tulpini de găini obeze au fost detectate specimene cu hipotiroidie spontană, ai căror descendenți prezintă peste 90%

insuficiență tiroidiană. Boala este autoimunitară deoarece sînt prezenți autoanticorpi tiroglobulinici. Bursectomia previne producerea autoanticorpilor, iar timectomia neonatală reduce imunitatea mediată celular și agravează boala. Rezultă că modificările patologice sînt dependente de celulele derivate din bursă sau de anticorpii pe care îi produc, pe cînd rolul major al timusului este acela de supresie.

Complexele antigen — anticorp, identificate de-a lungul membranei bazale în tiroidita umană și experimentală, pot iniția un proces activ de boală autoimună la tulpini de șoareci sensibili, care nu a fost observată și la șobolani BUF, care fac tiroidită spontan.

Rolul patogenic al *limfocitului T citotoxic* este sugerat de cercetările care au arătat că celule din nodulii limfatici de la iepuri imunizați cu Tgl atacă și împiedică creșterea celulelor tiroidiene de iepure, și că celule limfoide de la iepuri injectați cu antigene neînrudite produc leziuni celulare similare, deși mai puțin intense. S-a arătat de asemenea că celule limfoide circulante de la bolnavi cu tiroidită cronică lizează celule de mastocitom învelite cu Tgl ; nu s-a investigat însă dacă celulele responsabile sînt limfocite T citotoxice.

Alteori, limfocitele normale cooperează cu anticorpii pentru a da efecte citotoxice în celula țintă. Această reacție citotoxică este mediată celular și anticorp-dependentă, specificitatea fiind conferită de anticorp, iar efectul citotoxic de limfocite. În aceste cazuri, celula afectoare este *limfocitul nul* (v. cap. II, A), iar anticorpii sînt de tip IgG.

Reacțiile mediate celular au o importanță certă în producerea leziunii tisulare în bolile autoimune, dar distrucția finală este rezultanta unei lungi serii de reacții specifice și nespecifice greu de analizat (Rose, 1979). O secțiune în aceste evenimente o reprezintă interacțiunea factorilor umorali cu limfocitele și macrofagele, care acționează ca efectori majori ai leziunii tisulare și informațiile care pot fi obținute ar aduce noi clarificări.

B. *Autoimunitatea suprarenalei*

1. Boala Addison „idiopatică". Cele mai frecvente cauze actuale ale bolii Addison sînt atrofia corticosuprarenalei (CSR) în aproape 80 % și tuberculoza în 20 % din cazuri. Un foarte mic număr de bolnavi fac insuficiență prin atingere SR primară din alte cauze, ca : tumori metastazice, amiloidoză, hemoragie, embolie arterială, micoze, histoplasmoză etc. Erorile înnăscute ale biosintezei hormonilor CSR pot duce la insuficiență, dar cu hiperplazia țesutului CRS, nu cu atrofie.

Boala Addison „idiopatică", dar și cea de origine tuberculoasă, apare la toate vîrstele, semnalîndu-se cazuri încă din prima decadă de vîrstă, incidența maximă la ambele sexe fiind observată în decadele 2—6. Incidența la sexul feminin este totdeauna predominantă, iar raportul femei/bărbați este de aproximativ 2/1 (față de aproape 20/1 în tiroidita Hashimoto).

Antigenele conținute în omogenatele de CSR sînt proteine termolabile și dezvoltă,prin inoculare la un animal de altă specie, trei sau patru anticorpi distincți.

Prezența anticorpilor SR la om a fost observată la aproximativ 60% din bolnavii cu boala Addison. În mod obișnuit acești autoanticorpi sînt specifici pentru CSR, dar uneori pacienții prezintă și alți autoanticorpi care reacționează și cu alte celule steroidoformatoare, și anume cu celulele granuloase ale ovarului, cu celulele Leydig ale testiculului și cu celulele trofoblaste ale placentei (Doniach și Roitt, 1975).

Autoanticorpii SR la om, dominant de tip IgG, sînt puși în evidență prin tehnici serologice clasice : reacția de fixare a complementului, hemaglutinarea pasivă, reacția de precipitare (rareori) și imunfluorescența. Sursa optimă de antigen este țesutul suprarenal obținut de la bolnavii suprarenalectomizați pentru boală Cushing datorată hiperplaziei netumorale.

Antigenele sînt repartizate inegal în cele trei zone ale CSR, dar zona fasciculată pare să le conțină pe toate. Ele sînt insuficient caracterizate, dar se pare că sînt mai ales corpusculare, conținute în citoplasmă, în fracțiunea microsomală și mitocondrială.

Semnificația diagnostică a autoanticorpilor SR. Pentru diagnosticul de boală Addison idiopatică este necesar să se stabilească atît prezența unei insuficiențe SR primară (periferică) și nu secundară (centrală, de origine hipotalamo-hipofizară), cît și originea netuberculoasă a leziunilor. În aceste cazuri, demonstrarea prezenței autoanticorpilor anti-SR apare semnificativă pentru diagnosticul de boală autoimună.

Prezența autoanticorpilor anti-SR și asociația bolii Addison cu alte boli autoimune endocrine și ne-endocrine este observată în marea majoritate a cazurilor numai în forma idiopatică nu și în cea de origine tuberculoasă.

Suprarenalita imunologică a fost realizată experimental la diferite specii de animale (Colover, 1958 ; Milcu și colab., 1959 ; Shulman și colab., 1965), prin imunizare cu antigene CSR înglobate în adjuvant. Prin tehnica de imunfluorescență s-a precizat că anticorpii reacționează nu numai cu citoplasma celulelor CSR, ci și cu celulele interstițiale ale ovarului, testiculului și uneori cu spermatozoizii sau cu precursorii lor.

Leziunile tardive, caracterizate prin exsudat de celule plasmatice, cu leziuni ale parenchimului SR în vecinătatea zonelor de infiltrație limfocitară și de ischemie, seamănă cu cele observate în encefalomielita alergică experimentală ; deși cele două țesuturi se deosebesc ca structură și relație a vaselor cu parenchimul, ele sînt asemănătoare prin prezența în compoziția chimică a substanțelor de natură lipidică și a hormonilor steroizi.

Boala experimentală poate fi transferată cu celule limfoide.

Asociația cu alte boli autoimnne interesează hipoparatiroidia, insuficiența ovariană precoce, diabetul zaharat, boli ale tiroidei, anemia pernicioasă (Irvine, 1975).

Boala Addison idiopatică este asociată uneori cu vitiligo, probabil tot o boală autoimună organ-specifică, ținînd seama de evoluția leziunilor cutanate.

2. **Sindromul Cushing**. Hiperfuncția RCS bilaterală este forma clinică centrală a sindromului Cus hing este atribuită unei secreții excesive de ACTH hipofizar. Totuși, nu totdeauna se poate observa creșterea concentrației ACTH circulant, iar hipofizoliza radioizotopică cu Ytrium-90 este ineficientă în aproximativ o treime din cazuri. Analog cu autoanticorpii stimulatori ai tiroidei (LATS și LATS-protector), se pare că

există și un autoanticorp stimulator al CSR. S-a observat la unii bolnavi cu suprarenalită autoimună că există autoanticorpi antihipofiză, ceea ce sugerează că în sindromul Cushing pot fi sintetizați și secretați autoanticorpi care să producă hiperactivitatea CSR prin stimularea celulelor corticotrope ale hipofizei anterioare (Irvine, 1977). În același sens pledează descrierea unui caz cu hiperplazie suprarenală bilaterală asociată cu infiltrație limfocitară și autoanticorpi suprarenali în ser.

C. *Autoimunitatea pancreasului*

Asocierea diabetului zaharat cu boala Addison a fost semnalată la un interval de 11 ani după descrierea bolii suprarenalei, iar anticorpii anti-insulină eterologă (bovine, porcină) au fost semnalați încă din primii ani după aplicarea insulinoterapiei. Totuși, date certe care să justifice încadrarea diabetului printre bolile autoimune organospecifice au fost obținute abia în ultima decadă.

Diabetul zaharat (DZ) coexistă cu boli autoimune ale tiroidei, stomacului și CSR. Aproximativ 14% din pacienții cu boală Addison au DZ, ceea ce reprezintă o incidență de șase ori mai mare decît în populația generală. În plus, în DZ insulino-dependent (DID) se observă incidența crescută a autoanticorpilor tiroidieni, gastrici și CSR. Incidența hipotiroidiei primare subclinice crește la persoane de peste 50 ani cu DZ (Irvine, 1977).

În cazuri cu DZ recent s-au observat leziuni de insulită asociate cu infiltrația limfocitară a insulelor și degenerare celulară, iar uneori fibroză. Un studiu pe material necroptic arată că în DZ netratat apare reducerea numărului insulelor și al celulelor beta, modificări atrofice în insulele rămase și fibroză interacinară crescută. În cazurile tratate aceste leziuni sînt încă mai intense. În diabetul cu debut la maturitate se observă de asemenea reducerea numărului insulelor. Spre deosebire de tiroidita și gastrita autoimună, insulele diabetice rareori conțin celule plasmatice.

Autoanticorpii anti-celule insulare (ACI) au fost descoperiți la bolnavi cu boli endocrine autoimune și în DZ, folosind imunfluorescența indirectă și fixarea complementului. ACI au fost observați și în DZ cu boală Addison. La 105 copii diabetici, dintre care 51 aveau ACI nu au fost observați anticorpi anti-CSR.

Hipoglicemia neonatală care durează cîteva săptămîni la copiii mamelor diabetice este analogă tirotoxicozei neonatale și reprezintă un indiciu că ACI sînt stimulatori ai celulelor betainsulare și că pot traversa placenta ca și LATS-protector (HTS). Mai mult, ACI pot explica apariția hipoglicemiei la persoane care vor deveni diabetice.

Urmăriți sistematic, ACI sînt prezenți în serul bolnavilor cu DID,
rareori la cei cu DII și numai la 0,5% din martorii normali. ACI sînt tran-
zitorii la DII pe cînd la DID persistă mulți ani. Prezența ACI la normali
este un semnal de risc pentru DZ. Un studiu pe 300 de copii cu DID a
arătat că 83% aveau ACI încă din primele 2 luni de boală. S-au putut
evidenția ACI anti-celule A, anti-D și anti-celule insulare de un tip nei-
dentificat. Nu au fost observați anticorpi specifici pentru celule B. ACI
au putut fi evidențiați și la un an de la debutul bolii, deci o persistență
mult crescută față de diabetul adultului.

Analiza serului prin imunfluorescență la bolnavi cu diferite tulburări autoimune (Bottazzo, 1979) a arătat că 1–4% conțin anticorpi care reacționează specific cu celulele glucagonice sau somatotrofe din insulele pancreasului. Jumătate din acestea dau reacții încrucișate cu celulele endocrine ale stomacului și intestinului, dar altele reacționează numai cu pancreasul. Acești anticorpi nu sînt ACI.

În ultimii ani au fost semnalate cazuri cu rezistență gravă la insulină datorate anticorpilor antireceptor insulinic (anti-RI). Studiul acestor bolnavi (femei de vîrstă medie) arată că au semne clinice și serologice ale altor boli autoimunitare, inclusiv anticorpi anti-DNA, antinucleari, leucopenie etc.; rareori au autoanticorpi organ-specifici. Anti-RI sînt detectați prin capacitatea de a bloca legarea insulinei sau de a da imunoprecipitate cu receptorii solubilizați. Anti-RI se leagă de pe celulele unei mari varietăți de specii, de la pești la om. Anti-RI sînt IgG policlonale în majoritatea cazurilor. Receptorii care leagă anti-RI sînt normali, deci defectul este o tulburare a supravegherii imunologice.

Similar cu LATS, anti-RI mimează *in vitro* multe din efectele insulinei, printre care *stimularea* transportului și metabolismului glucozei, a încorporării aminoacizilor în proteine, *inhibiția* lipolizei, *activarea* glicogen-sintetazei și inhibiția fosforilazei. Mimează și unele efecte de durată ale insulinei ca *inducerea* lipoprotein-lipazei. Expunerea prelungită a celulelor la acțiunea anti-RI determină însă pierderea efectelor similare insulinei și apare o stare de insulino-rezistență. Desensibilizarea pare să necesite un metabolism celular activ și glucoză fie ca sursă de energie fie ca un cofactor (Kahn, 1979).

Atît efectul insulin-like al anti-RI, cît și cel de desensibilizare a receptorului necesită bivalența anticorpului; fragmentele Fab monovalente (v. cap. II, E–1) blochează legarea insulinei, dar nu au efect biologic. Legarea ^{125}I anti-RI la receptor este inhibată de insulină și de anti-RI nemarcat. Rezultă că anti-RI pot fi nu numai mediatori importanți ai bolii, ci și indicatori ai structurii și funcției receptorului și de aceea factori utili pentru studiul acțiunii insulinei.

Autoanticorpi insulinici au fost observați la unele cazuri cu DZ. De asemenea, prezența unor concentrații mari de proteine precursoare ale insulinei în urina bolnavilor cu diabet juvenil a fost considerată ca un indicator al unor procese distructive în pancreasul insular. Sinalbumina — antagonistul insulinei — în plasma diabeticilor poate fi un produs al leziunii celulelor beta, care poate prezenta suficiente asemănări cu insulina pentru a juca rolul unui agent blocant al receptorilor insulinei.

Două gene separate ale răspunsului imun par să fie asociate cu riscul de apariție al DID. Efectele celor două gene este aditiv, ele aflîndu-se în linkage instabil cu genele MHC (v. cap. I, E), și anume: gena *Ir-1* cu *HLA-Al*, *B8* și *DW3/DRW3*, iar *Ir-2* cu *A2*, *CW3*, *B15* și *DW4/DRW4*. O a treia genă Ir ar proteja împotriva apariției DID și este în linkage cu *A3*, *B7* și *DW2/DRW2*.

Gena *Ir-1* este asociată cu aspectele autoimune ale DID, de exemplu persistența ACI, iar *Ir-2* este asociată cu tendința la producerea anticorpilor pentru insulina exogenă.

Persistența ACI în diabetul zaharat este asociată cu *DW3* la care se asociază și anticorpii CSR și boala Basedow, probabil prin acțiunea diferitelor *HLA-DW3* asociate cu genele răspunsului imunitar (Nerup, 1979).

D. *Autoimunitatea paratiroidiană*

Hipoparatiroidia idiopatică este o entitate nozografică insuficient conturată. Boala poate apărea la ambele sexe și la orice vîrstă, dar în special la copii, incidența maximă fiind în decadele 1–3.

Folosind antigen preparat din paratiroida normală au fost detectați, prin imunfluorescență, autoanticorpi paratiroidieni la 38% din 74 bolnavi cu hipoparatiroidie, comparativ cu 6% în populația normală. Autoanticorpii paratiroidieni nu reacționează cu hormonul paratiroidian și nu dau reacții încrucișate cu alte țesuturi. În unele cazuri, autoanticorpii paratiroidieni sînt fixatori de complement. Histologic, paratiroidele acestor bolnavi prezintă atrofie și infiltrații limfocitare.

Principalele asocieri ale hipoparatiroidiei sînt cu boli autoimunitare manifeste, ca boala Addison idiopatică (24%), tiroidite, anemia pernicioasă, insuficiența ovariană; alteori asocierea implică numai prezența de autoanticorpi tiroidieni (15%) sau gastrici (12%).

Aspectele histologice de infiltrație limfoplasmocitară și cele umorale cu prezența anticorpilor fixatori de complement au fost reproduse la cîine prin imunizare cu paratiroidă omologă.

Hiperparatiroidia este determinată uneori de o tumoră paratiroidiană, dar alteori de hipertrofia difuză a celor patru formațiuni glandulare. Cauzele acestei hipertrofii sînt necunoscute. Spre deosebire de tiroidă, pentru paratiroidă nu a fost identificat un hormon trop. A fost emisă ipoteza că autoanticorpii antiparatiroidieni au rol stimulator pentru funcția endocrină.

E. *Autoimunitatea tractului genital*

Insuficiența ovariană prematură sau menopauza precoce se asociază uneori cu autoanticorpi serici. Tehnica de imunfluorescență a arătat că autoanticorpii prezenți la unele bolnave dau reacții pozitive cu corpul galben, cu celulele interstițiale și cu trofoblastele placentei umane sau altor mamifere. Reacții pozitive apar însă și cu alte țesuturi secretoare de steroizi, ca țesutul suprarenal, în special în cazurile de asociere a autoanticorpilor ovarieni cu boala Addison; dintre aceste cazuri, 20% din femeile tinere prezintă hipogonadism cu fibroză ovariană.

Patogenia autoimună a leziunilor ovariene nu este suficient fundamentată. O modalitate de abordare poate fi studiul imunologic al sindromului Turner, care reprezintă un „experiment natural” adecvat pentru

analiza influenţei cromosomilor sexuali asupra parametrilor imunitari. Concentraţia IgM seric, mai mare la femei decît la bărbaţi, sugerează ipoteza unei influenţe a cromosomului X asupra sintezei acestei Ig.

Au fost observate şi cazuri de hipogonadism cu ovare hipertrofice la mamă şi fiică, ceea ce sugerează mai degrabă un proces autoimunitar decît un defect enzimatic, ţinînd seama că defectul enzimatic se transmite totdeauna recesiv.

Date recente (Charreau şi colab., 1979) privind insuficienţa ovariană cu nivel normal al gonadotrofinelor pun problema unui efect de blocare a accesului gonadotrofinelor la receptorul ovarian prin intervenţia autoanticorpilor antireceptor ovarian.

Pruritul de gestaţie observat la femei aproape de termen este atribuit unui proces imunologic, administrarea HCG determinînd atît ameliorarea simptomatologiei clinice, cît şi scăderea concentraţiei IgG, IgA şi IgM în ser (Cardone şi Tolino, 1979).

Unele observaţii asupra metroanexitelor cronice par să arate că reacţia inflamatorie locală poate stimula o reacţie autoimună.

Autoimunitatea tractului genital masculin. Capacitatea imunogenă, omologă şi autologă, a spermatozoizilor este cunoscută încă de la începutul acestui secol (Metchnikov; Landsteiner). Studii recente au lărgit aceste cunoştinţe.

La om, orhita posturliană este considerată ca o tulburare autoimună deoarece debutul coincide cu răspunsul imun maxim la virus, iar virusul nu este detectabil în ţesutul testicular afectat. Incidenţa orhitei mai mare la adulţi (20% din cazurile de parotidită urliană) faţă de băieţi (1,5%) este atribuită diferenţei de maturare sexuală şi unei probabilităţi crescute a apariţiei clonelor interzise la adult faţă de copil. S-a presupus că legătura cu parotidita ar putea fi rezultatul unui antigen specific de ţesut cu determinanţi comuni pentru cele două glande, astfel încît un stimul antigenic de la parotida bolnavă ar activa o clonă interzisă latentă antitesticul, atunci cînd aceasta există.

Cercetările clinice cu ajutorul tehnicilor de aglutinare au pus în evidenţă autoanticorpi antispermatozoizi în sînge şi în plasma seminală cu o incidenţă de 3,3% din 2 015 cazuri de infertilitate masculină. Semnificaţia clinică a autoanticorpilor antispermatozoizi, obişnuit de tip IgG şi IgA, nu este clară. Totuşi, unele tentative terapeutice cu substanţe modulatorii ale reactivităţii imunitare au dus la rezultate încurajatoare.

F. *Autoimunitatea hipofizei*

Un proces autoimunitar la nivelul hipofizei s-ar putea manifesta clinic ca o „poliendocrinopatie" datorită rolului său fiziologic. Au fost semnalate leziuni de hipofizită asociată cu boala Hashimoto, coexistenţa anemiei pernicioase cu insuficienţă CSR şi hipotiroidie, iar la necropsie infiltraţii limfocitare în hipofiză.

Anticorpi organ-specifici au fost observați la 18% din femei, la 7 zile postpartum și într-un caz cu sindrom Sheehan care dura de 5 ani. Tehnica cu dublu fluorocrom a permis identificarea la om a autoanticorpilor anti-celule prolactinice și somatotrope. Acești autoanticorpi au ca partener antigene ale membranei intracelulare. Autoanticorpii anti-celule prolactinice au fost observați la bolnavi cu poliendocrinopatie și în special la cei cu hipoparatiroidie idiopatică și în insuficiența hipofizară parțială. Autoanticorpii anti-celule somatotrope au fost observați la tineri cu deficit de creștere și în deficitul somatotropic izolat (Bottazzo, 1975, 1979).

Se consideră că lărgirea cunoștințelor despre fenomenele autoimune legate de hipofiză ar putea înlesni înțelegerea apariției acromegaliei și sindromului Cushing, a insuficienței hipofizare mono-hormonale și a hipopituitarismului generalizat idiopatic.

X

Patologia complementului[*)]

A. *Defecte genetice*

Defecte genetice au fost descrise pentru aproape toate componentele C la om (Ballow, 1975, Boyer, 1975; Hauptman, 1978; Petersen, 1974). În toate cazurile, defectele se transmit autosomal-recesiv şi heterozigoţii sînt uşor detectaţi deoarece serurile lor conţin aproximativ jumătate din nivelul normal al componentului deficient, determinabil prin teste funcţionale şi/sau imunochimice. Activitatea hemolitică sau de alt ordin este complet refăcută prin adăugarea la serul deficitar a componentului izolat. Defecte genetice au fost de asemenea identificate pentru doi inhibitori ai sistemului C: inhibitorul lui C1 şi inactivatorul lui C3b. În timp ce acesta din urmă a fost găsit pînă acum numai la doi copii, moştenit ca un caracter autosomal recesiv, deficienţa inhibitorului lui C1 este moştenită autosomal dominant şi este cea mai frecventă din defectele ereditare ale C. Ea se asociază cu edem angioneurotic ereditar sau boala Quincke ereditară şi familială.

Descoperirea recentă a unei relaţii genetice strînse între MHC şi sistemul C a dat un nou impuls cercetărilor în domeniul geneticii C (Gibson, 1976). Se ştie în acest sens că genele structurale pentru C2, C4 şi factorul B al căii alterne sînt situate în vecinătatea imediată a genelor care fac parte din complexul HLA pe cromosomul 6 (v. cap. I, E).

Frecvenţa reală a deficienţelor moştenite ale sistemului C este încă departe de a fi cunoscută. Rareori aspectul clinic este atît de sugestiv pentru una din aceste tulburări şi pentru acest motiv orice bilanţ imunologic al unui bolnav trebuie să comporte şi un studiu al sistemului C.

1. **Deficienţa inhibitorului lui C1** (edemul angioneurotic ereditar). Afecţiunea a fost descrisă în 1963 (Donaldson) şi se caracterizează prin: crize asfixice intermitente, care pot fi cauză de deces, şi edeme recidivante ale feţei şi extremităţilor; transmitere ereditară autosomală dominantă; existenţa pe plan biochimic al unui deficit în inhibitorul C1-esterazei (Hauptman, 1978).

Debutul manifestărilor clinice apare de regulă în copilărie sau adolescenţă, dar intensitatea maximă se constată în deceniile 2—3. Gravitea simptomelor variază mult de la o familie la alta şi de la un individ la altul în aceeaşi familie.

Caracteristică este apariţia de edeme, nepruriginoase, moi şi palide, persistînd în genere 2—3 zile. Ele pot fi precedate de zone marmorate sau de leziuni de eritem marginat, dar niciodată de leziuni urticariene. Afec-

---

*) În colaborare cu dr. R. Gologan.

tarea mucoaselor este constantă, afectarea celei digestive traducîndu-se prin episoade de dureri abdominale însoţite de vărsături şi diaree. Edemul mucoasei orofaringiene şi laringiene este complicaţia cea mai gravă, mortalitatea putînd ajunge, în aceste cazuri, pînă la 50%. Factorii declanşatori sînt foarte variaţi (traumatisme, ciclu menstrual, suprasolicitare etc,). dar niciodată alergici.

Din punct de vedere clinico-biologic s-au descris două forme : (*a*) *forma comună* (85% din cazuri) la care nivelul inhibitorului este foarte scăzut (în medie 17,5% din nivelul normal); (*b*) *forma cu deficit funcţional*, în care inhibitorul apare ca un nivel normal la dozarea imunochimică dar scăzut la dozarea enzimatică (Rosen, 1971).

Diagnosticul se pune numai prin dozări specifice. Serul majorităţii bolnavilor afectaţi conţine între 5 şi 30% din concentraţia normală (180 mg/l). Cele două investigaţii curent folosite pentru explorarea sistemului C (şi anume : dozarea C total şi a fracţiunii C3) nu permit punerea diagnosticului. C total este mult scăzut numai în timpul crizelor. De asemenea sînt scăzute nivelele lui C4 şi C2, îndeosebi în timpul crizelor. Testul specific are la bază principiul că scăderea forţei ionice provoacă activarea lui C1 care este reprimată de inhibitor. În condiţiile unui deficit al acestuia se produce activarea ulterioară şi a celorlalte fracţiuni care se consumă, de unde scăderea netă a C hemolitic din ser (Fong, 1970). Dozarea inhibitorului se poate face fie imunochimic, prin imunodifuzie radială, cu ajutorul unui imunoser specific, fie prin metode enzimatice.

În ceea ce priveşte relaţia dintre deficitul în inhibitor şi apariţia edemelor s-a stabilit că inhibitorul lui C1 are acţiune şi asupra formării de plasmină ; acţiunea combinată a plasminei şi a C1 asupra componentelor C4 şi C2 antrenează formarea unui polipeptid cu proprietăţi vasodilatoare, responsabil de edem. Inhibitorul C1-esterazei blochează activitatea esterolitică a lui C1 activat pentru substratele naturale (C4 şi C2) şi sintetice (N-acetil-L-tirozină etil-ester). Inhibitorul lui C1 inhibă totodată kallikreina, factorul XI activat şi factorul Hageman activat, precum şi plasmina. În declanşarea unei crize, factorul Hageman pare să joace un rol important. El induce o activare a sistemului de coagulare a kininelor şi fibrinolizei cu formare de plasmină. Aceasta are proprietatea de a activa pe C1. Astfel se explică activarea sistemului C sub acţiunea unui traumatism.

2. **Deficitul în C1r** a fost detectat iniţial la doi fraţi cu un sindrom similar lupusului. Este foarte rar şi se pune în evidenţă prin teste funcţionale şi imunochimice.

3. **Deficitul în C1s** a fost descris la un copil de 6 ani cu lupus eritematos diseminat acut.

4. **Deficitul în C2** este primul deficit descris şi cel mai frecvent după cel al inhibitorului lui C1 (Glass, 1976). Proporţia persoanelor afectate ar fi de 1%. Deşi se întîlneşte la o mare parte din indivizii sănătoşi, deficitul în C2 a fost găsit la persoane cu glomerulonefrită, lupus eritematos diseminat sau discoid, dermatomiozită, purpură reumatoidă, vascularită cronică, poliartrită reumatoidă, boală Hodgkin. Frecvenţa complicaţiilor infecţioase, dintre cele mai variate, este mare la indivizii cu deficit în C2

(Newman, 1978). Este totodată bine stabilit că gena structurală pentru C2, ca și pentru C4 este strîns legată de complexul major de histocompatibilitate HLA-A10, B18, Dw2 (Fu și colab., 1974; Gibson, 1976) ceea ce constituie un exemplu remarcabil de asociere între un anumit grup HLA și o tulburare imunitară precisă (v. cap. I, E).

5. **Deficitul în C4** a fost descris în Franța (Hauptman, 1974), la o tînără cu lupus acut diseminat. Deficitul este rar, numai alte 2 cazuri fiind descrise pînă în prezent. Este de reținut asocierea cu grupul H47—A2 și Bw40.

6. **Deficitul în C3** : pînă în 1978 s-au descris 3 cazuri (Ballow, 1975; Hauptman, 1978). Toate s-au asociat cu infecții microbiene severe. Nivelul lui C3, apreciat imunochimic, a fost mai mic de 2,5 mg/l. Majoritatea funcțiilor mediate prin C, cum sînt activitatea hemolitică, opsonizantă și bactericidă, sînt mult deprimate sau absente.

7. **Deficitul în C5** a fost descris pînă în prezent într-o singură familie (Rosenfeld, 1971). Unul din membri a dezvoltat un lupus acut diseminat. Infecțiile cutanate și mucoase sînt frecvente.

8. **Deficitul în C6** a fost găsit prin teste funcționale și imunochimice la bolnavi cu artrită gonococică și meningococemie. Infecțiile sistemice cu *Neisseria* sînt de asemenea frecvente.

9. **Deficitul în C7** a fost descris (Boyer, 1975) la o tînără cu sindrom Raynaud, evoluînd de mai mulți ani și suspectată de sclerodermie.

10. **Deficitul în C8** a fost descris (Petersen, 1974) la un bolnav cu infecție gonococică diseminată și prelungită și al cărui ser era lipsit de activitate bactericidă antigonococ.

11. **Deficitul în inhibitorul lui C3b** a fost descris la un bolnav cu infecții severe repetate (Alper, 1970). Aproximativ 75% din nivelul lui C3 și acesta redus la 20% din normal era sub forma produsului de conversie C3b. Rata catabolică a lui C3 la acest bolnav era de 5 ori mai mare ca la normal și 40% din proteina marcată injectată a fost convertită la C3b în numai 2 ore după injecție.

B. *Modificări ale sistemului complement în patologie*

1. *Hipercomplementemiile* se întîlnesc într-un număr de afecțiuni inflamatorii, neoplazice, infecțioase, traumatice, ischemice. Creșterea este variabilă, depășind rareori dublul nivelului normal. Creșterea nivelului C total se însoțește de o creștere mai mult sau mai puțin paralelă a nivelului diferitelor componente.

Mecanismul hipercomplementemiilor nu este bine cunoscut. El s-ar produce printr-o hipersinteză celulară a componentelor, relevînd o sti-

mulare a celulelor producătoare prin produşi eliberaţi din focarele leziunilor tisulare sau plecînd de la limfocitele activate (limfokine).

Hiper-C merge în general paralel cu creşterea VSH, a α-2-globulinei, a proteinei C reactive şi este considerată adesea ca un simplu stigmat biologic nespecific al reacţiei inflamatorii (reactanţi din faza acută).

2. *Hipocomplementemiile* se pot datora mai multor mecanisme (tabelul nr. 20), cele de consum fiind foarte frecvente. Scăderea nivelului C total este variabilă, putînd merge pînă la dispariţia oricărei urme de C hemolitic în ser. Consumul de C se poate face prin calea clasică şi se însoţeşte de o scădere caracteristică a nivelului tuturor componentelor. Atunci cînd consumul se face pe calea alternativă, nivelul componentelor iniţiale ale căii clasice (C1, C4, C2) rămîne normal, în timp ce nivelul componentelor terminale este coborît; este ceea ce se petrece în special în septicemiile cu Gram-negativi şi şoc endotoxic.

Tabelul nr. 20

Principalele cauze de scădere a nivelului C prin consum

Lichid biologic	Diagnostic clinic	Calea de activare implicată	
		clasică	alternă
Ser	Glomerulonefrită poststreptococică	+	±
	Glomerulonefrită membrano-proliferativă cronică	0	+
	LED	+	±
	Endocardită malignă lentă cu glomerulonefrită	+	0
	Boala serului	+	0
	Anemie hemolitică autoimună	+	0
	Crioglobulinemie mixtă	+	0
	Şoc endotoxic cu Gram-negativi	0	+
	Rejecţia homotransplantelor	+	0
	Edem angio-neurotic ereditar prin deficit în C1s	+	0
	Atac de paludism	+	0
	Şoc hemoragic în dengă	+	0
	Cazuri rare de poliartrită reumatismală, miastenia gravis, limfoame, mieloame, macroglobulinemie, scleroză în plăci	+	0
Lichid, plural, pericardic şi sinovial	Poliartrită reumatoidă şi LED	+	0
LCR	LED	+	0

XI

Crioglobulinemiile

Crioglobulinemiile constituie sindroamele în care CI serice precipită la temperaturi scăzute ca macroagregate vizibile, iar clinic se pot însoți de tulburări trecătoare sau leziuni capilare și glomerulare ireversibile. Cu toată frecvența lor crescută în bolile imune prin CI, ca și în limfoproliferările cu hipergamaglobulinemii policlonale, un domeniu de patologie clinică specială a crioglobulinemiilor a apărut numai recent. Meltzer și Franklin, în 1966, publică primul studiu amplu pe 29 de cazuri, care a rămas clasic.

Fenomenul de crioglobulinemie a fost semnalat însă din 1933, de către Wintrobe și Buell, la un caz cu mielom, iar denumirea de „crioglobuline" a fost dată mai tîrziu (Lerner și Watson, 1947). Între 1950 și 1966 apar descrieri și caracterizări clinice pe grupe mici de cazuri, mai ales în mieloame și limfoame, cu crioglobulinemii monoclonale IgG sau IgM. După 1970 apar descrieri pe grupe mari de cazuri, primare sau secundare (Cream, 1972), care relevă importanța factorului reumatoid. Se stabilesc, totodată, prin analize imunochimice, 3 tipuri de crioglobulinemii care participă la precipitarea sub formă de macroagregate complexe. S-au individualizat astfel factori activi cu acțiune de aglutinine la rece, de FAN, FR și complement, identificați mai ales în boli prin CI, inclusiv în glomerulonefrita cronică (Gamble și Ruggles, 1978).

La noi în țară a fost semnalată gravitatea și ireversibilitatea leziunilor din purpurele disglobulinemice, în genere cu crioglobulinemii, cu evoluție de lungă durată, terminînd cu insuficiență cardiacă și renală (Berceanu și colab., 1966 ; Berceanu, 1968, 1975 ; Bruckner și Berceanu, 1971). Cercetări recente au pus la punct metodele de analiză imunochimică a crioglobulinelor (Berceanu și colab., 1980).

Structura imunochimică a crioglobulinelor și mecanismului de precipitare. Meltzer separă crioglobulinele cu un singur tip de Ig (grupa I cu IgG și grupa a II-a cu IgM) de crioglobulinele cu două tipuri de Ig (grupa a III-a cu complexe IgG—IgM), care se comportă ca FR. Ca etiologie primară, în grupa I, din 8 cazuri, 4 sînt cu mielom și cu concentrații mici de 0,03—0,05 g/100 ml, pe cînd restul — dintre care două forme esențiale — aveau concentrații mari de 0,3—2,8 g/100 ml. Autorii au atras de atunci atenția că simptomatologia clinică nu este corespunzătoare concentrațiilor. În grupa a II-a (IgM), crioprecipitatele erau toate secundare în cazuri de limfosarcom sau boală Waldenström, totdeauna cu concentrații mari de 0,5—2,5 g/100 ml și de aceea precipitabile la temperaturi înalte de 21—33°C.

După 1970, în urma cercetărilor lui Brouet și Seligman, crioagregatele se împart în 3 tipuri, după criterii imunochimice.

Tipul I conține un singur component monoclonal, în ordinea frecvenței fiind IgM, IgG sau IgA și rar lanțuri ușoare de tip Bence-Jones; sînt monoclonale, cu lanțuri kappa sau lambda. Precipită la temperaturi din ce în ce mai ridicate pe măsură ce concentrația lor este mai mare. Pot să fie asimptomatice sau să dea tulburări de hipervîscozitate și ischemie circulatorie cu sindrom Reynaud, iar cînd ischemia este accentuată, fenomene purpurice, tromboze cu ulcerații și gangrene periferice. Sînt posibile și asocieri de sindrom hemoragic, fie de tip coagulopatie de consum prin microangiopatie și CID, fie prin disfuncție funcțională trombocitară cu scăderea agregabilității și eliminării de factor 3, prin îmbrăcarea trombocitelor cu macroagregate (Weintraub și colab., 1972). Sînt mai rare însă leziunile de vasculită și capilarită inflamatorie ca în purpurele prin CI.

Tipul II constă dintr-un macroagregat Ig, în care un component IgG este anticorp față de celălalt component Ig, în genere IgM și mai rar IgE sau IgA. Funcția de anticorp aparține subclasei IgG_3 și se leagă de cealaltă Ig prin segmentul Fc; legarea se poate face și prin IgG_1 și IgG_2, subclasa IgG_3 fiind autoanticorp. IgG anticorp este monoclonală, în genere cu lanțuri kappa și este specifică, nelegîndu-se ca FR de IgM omolog sau eterolog (Brown, 1977). Complexul de acest tip apare în limfoame, în LIC, în sindromul Sjögren, în poliartrita reumatoidă dînd leziuni inflamatorii, ca și în boli prin CI ca glomerulita și vasculita. În crioprecipitatele care leagă cantități mari de Ig, subclasele IgG1, IgG2 și IgG4 pot să scadă semnificativ în ser, realizîndu-se o hipogamaglobulinemie.

Tipul III constituie crioglobulinele mixte sau complexe policlonale, cu prezență de FR în 60% din cazuri. FR este un anticorp IgM și leagă o IgG sau IgA ca antigen. Imunoglobulinele antigenice pot să fie anticorpi față de anumite antigene exogene microbiene sau parazitare sau față de autoantigene, comportîndu-se ca FAN sau aglutinine la rece, în genere specifice anti-I.

Crioglobulinele mixte sînt un exemplu interesant de autoreacție a anticorpilor anti-anticorpi. Este posibil să se producă anticorpi fie față de CI circulante ce conțin IgG policlonală față de autoantigene (nucleare, eritrocitare, membrane bazale), fie față de eteroantigene (virus HBs, virus Epstein-Barr, plasmodium, bacterii, coccidiomicoză) (Gamble și Ruggles, 1978). Asemenea anti-anticorpi pot forma macroagregate cu proprietăți de crioprecipitate.

De semnalat că toate componentele din complexe, mai ales cele cu autoantigene și complement, sînt mai concentrate în complexele precipitate decît în ser. Se pot găsi astfel chiar limfocitotoxine, FAN și factorii C4 și C2 care scad în ser. Crioglobulinele mixte sînt în genere secundare în bolile autoimune, LED, sindrom Sjögren, PCE, AHAI, ca și în limfoame, mononucleoza infecțioasă, lues, tripanosomiază.

Mecanismul de producere a agregatelor la temperaturi mai joase decît temperatura corpului și a laboratorului nu este bine precizat. Din punct de vedere fizic, crioagregarea duce la formarea de floculate, cristale sau gel, în genere în funcție de mediu și mai puțin de natura CI. La o anumită forță ionică și la un anumit pH, crioprecipitarea este în funcție de concentrație, cînd aceasta este mare făcîndu-se la temperaturi mai înalte;

de aceea, temperatura critică de precipitare nu este aceeaşi în ser şi *in vivo* (unde există factori care favorizează menţinerea în stare solubilă) cu cea *in vitro* (unde agregarea are loc la temperaturi joase, chiar de 4°); pH-ul optim este de 5,5—8, deasupra şi dedesubt nefiind posibilă precipitarea nici la temperaturi joase. Există inhibitori ai crioprecipitării ca albumina şi dodecilsulfatul de sodiu. Nu pare să existe o modificare intrinsecă a moleculelor de Ig şi nici a fragmentelor de carbohidraţi. S-a arătat însă că IgG din complexele IgM—IgG, mai ales ca FR, nu conţin acid sialic. Se interpretează că IgG desializat este mai puţin solubil sau că este mai imunogen, devenind autoantigen pentru stimularea FR (Zinneman, 1968). S-a mai observat o creştere a solubilităţii complexelor prin reducerea enzimatică a carbohidraţilor.

Manifestările clinice ale crioprecipitatelor pot îmbrăca *forme esenţiale*, ca patologie determinată de leziunile prin CI cu localizări mai particulare, şi *forme secundare*, în care leziunile constituie complicaţii ale afecţiunilor de bază, imune sau maligne.

În *formele esenţiale*, care au o frecvenţă de 25—30%, la tabloul clinic iniţial s-au adus unele completări fiziopatologice legate de patologia CI. De multe ori este greu de precizat natura esenţială a unui sindrom criopatic, întrucît manifestările sînt intricate cu o simptomatologie de împrumut de la alte afecţiuni imune sau maligne, ca limfadenopatii, sindrom Sjögren, glomerulonefrită etc. Simptomele care se asociază frecvent sînt artralgiile cu caracter de poliartrită reumatoidă, precum şi purpurele necrozante şi ulcerative, la care se adaugă ca semne generale oboseala şi, în funcţie de localizări, tulburări sistemice ca în boala lupică. În perioada de visceralizare, domină simptomele de glomerulonefrită cronică cu sindrom nefrotic, precum şi semne de insuficienţă cardiacă şi tulburări nervoase prin determinări cerebrale. În majoritatea cazurilor există adenopatie, mai mult sau mai puţin generalizată, cu splenomegalie; histopatologic se găsesc modificări imunoreactive cu caracter de hipertrofie gigantofoliculară şi uneori de adenopatie angioimunoblastică, cu posibilităţi de evoluţie spre un limfom malign, aşa cum am relatat în mai multe lucrări anterioare (Berceanu şi colab., 1967, 1975, 1977, 1978) şi aşa cum au arătat şi mulţi autori (Miescher şi Müller-Eberhard, 1976).

Ceea ce caracterizează toate formele de criopatii cu caracter esenţial este evoluţia progresivă agravantă spre o boală sistemică complexă, luînd cu timpul caracter de boală autoimună cu prezenţă de FR şi factor lupic şi anticorpi antieritrocitari. O altă caracteristică este evoluţia limfoproliferării spre un limfosarcom nodular sau difuz. Ca şi în alte afecţiuni cu deficit imun este foarte probabil că există şi în criopatii un deficit imun cu incapacitate de eliminare a antigenelor microbiene.

Posibilităţile terapeutice, deşi reduse, bine conduse pot să dea bune rezultate, cel puţin pentru o lungă perioadă. Noi avem bolnavi cu supravieţuiri de peste 15 ani, însă foarte rar se ajunge la remisiune completă. Corticoterapia nu are decît efecte trecătoare şi este contraindicată la cei cu tendinţă de infecţii. Imunosupresia cu endoxan, aplicată în perioade lungi,

alternînd cu administrarea de antimalarice, pare să fie metoda optimă de terapie. Este de asemenea posibil ca unele cazuri să poată beneficia de terapia, recent introdusă, cu derivaţi imunosupresivi de rifamicină SV (Păunescu, 1979).

În unele cazuri, splenectomia a dat cele mai bune rezultate, schimbînd complet evoluţia chiar dacă examenul histologic a arătat leziuni cu caracter de limfosarcom nodular sau difuz. În perspectivă sînt de aşteptat metode pe bază imunobiologică care să corecteze deficitul imun de clearance al antigenelor restante, determinat probabil de dereglarea cooperării Ts— Th.

XII

Imunitatea și bolile canceroase[*)]

Ideea intervenției unui mecanism imun în creșterea tumorală a fost emisă prima oară de Paul Ehrlich, în 1906. Ulterior, datele experimentale și mai multe observații clinice asupra unor tumori maligne, corect diagnosticate histologic, care au prezentat regresii spontane, uneori cu vindecări, au ridicat problema dacă organismul poate reacționa la celulele neoplazice ca față de „non-self" sau de o alogrefă. Se consideră că organismul gazdă poate declanșa un răspuns imun care să ducă la regresia sau chiar la distrugerea tumorii. Pentru declanșarea unui astfel de răspuns imun sînt necesare unele modificări antigenice în celula tumorală și stimularea aparatului imun cu producerea de reacții imune de tip umoral și/sau celular, procese care — după cum s-a arătat (v. cap. III, G) — se dezvoltă în organism în anumite limite.

Cele mai importante date de imunologie tumorală sînt rezultate din cercetările experimentale pe animale inbred sau din studiile efectuate *in vitro*, clinica umană ridicînd multe dificultăți în studiul neoplaziilor, în special în faza incipientă, de creștere a tumorii. Rezultatele cercetărilor experimentale elucidează o serie de aspecte teoretice și chiar practice, dar extrapolarea lor la patologia umană este dificilă. În prezent există un material experimental foarte vast, cu unele date contradictorii și cu multe laturi neelucidate.

A. *Antigenele tumorale*

Cercetările experimentale efectuate cu tumori induse prin agenți chimici, fizici sau virali au arătat apariția de neoantigene, denumite „antigene asociate tumorii" sau „antigene specifice tumorii transplantate" (v. cap. III, G).

În 1953, Foley demonstrează producerea unei reacții antitumorale asemănătoare celei de homogrefă: el induce la șoarece un sarcom prin meticolantren, iar după extirparea tumorii, constată că animalul a dezvoltat o reacție imună suficientă pentru a inhiba creșterea unui reimplant cu aceeași tumoră.

Reacția de rejecție a transplantului tumoral a reprezentat metoda majoră pentru demonstrarea antigenelor tumorale în sistemele experimentale. În ultimii ani s-au pus la punct numeroase reacții *in vitro* pentru

---

*) În colaborare cu dr. Mariana Gociu.

demonstrarea prezenței de antigene tumorale: reacțiile de citotoxicitate umorală sau celulară, metodele de inhibiție a creșterii de colonii, reacții de imunfluorescență cu anticorpi specifici etc.

Cercetările intensive efectuate pe carcinogeneză indusă chimic sau prin virusuri au pus în evidență existența mai multor antigene asociate tumorii. Alexander a arătat că termenul de „antigen tumoral" este atribuit la două clase diferite de macromolecule: unele prezente pe sau în celula tumorală și care pot declanșa reacția imună a gazdei și altele care sînt asociate cu tumora, dar care sînt antigenice numai pentru alte specii decît cea a gazdei. În mare, antigenele tumorale se pot grupa în mai multe categorii (v. și cap. II, D):

a) *Antigene virale oncogene* prezente în special în tumorile induse prin virusuri RNA. În ultimii ani însă s-a demonstrat că și în tumorile induse prin virusuri DNA se pot pune în evidență antigene virale, dacă genomul viral este încorporat în genomul celulei-gazdă (Doerfler și colab., 1977). În această ultimă categorie se încadrează virusul Epstein-Barr, virus asociat cu două cancere umane: limfomul african Burkitt și cancerul nazofaringian (v. cap. II, G).

Toate aceste antigene poartă specificitatea virusului infectant și nu sînt legate de specificitatea organismului-gazdă.

b) *Antigene embrionare* sînt antigene de diferențiere (v. cap. II, G), fiind alcătuite din macromolecule prezente numai în cursul dezvoltării embrionare precoce și care dispar înainte de dezvoltarea sistemului imun, astfel că în organismul adult nu există toleranță imună pentru aceste antigene. Dacă prin procesul de transformare malignă a unor celule se produce derepresia unor gene embrionare, atunci acestea pot să codifice din nou sinteza de antigene cu caracter embrionar.

c) *Antigene tumorale unice*. Aceste macromolecule sînt specifice unei anumite tumori și nu reacționează încrucișat nici cu tumori produse cu același carcinogen la animale izologe sau chiar la același animal. Asemenea antigene apar în special în tumorile induse prin substanțe chimice și fizice, dar pot exista și în cele induse prin virusuri. Mecanismul de producere nu este precizat, discutîndu-se posibilitatea unei mutații produse de agentul cauzal.

În general, tumorile induse experimental prin agenți chimici conțin antigene tumorale specifice de transplantare din tipurile *b* și *c*; iar cele induse prin virusuri antigene de tip *a*, *b* și uneori *c*.

Antigenele tumorale umane au unele caractere speciale care le deosebește de cele experimentale. În general, antigenicitatea tumorală la om este legată de țesutul care generează tumora. Astfel de antigene histotipice au fost demonstrate în melanomul malign, cancerele de tub digestiv, de sîn, de endometru, testicul, precum și în diferite sarcoame (Hellström și colab., 1971). Cercetări mai recente au pus în evidență existența unui antigen tumoral de membrană în leucemia acută limfoblastică, prezent în multe cazuri cu această afecțiune (Mathé, 1976). Au pus în evidență antigene tumorale asociate atît în leucemia acută limfoblastică, cît și în cea mieloblastică (Powles, 1976; Taylor și colab., 1976). Alexander (1976) consideră că aceste antigene tumorale cu caracter „histotipic" ar constitui niște antigene embrionare specializate.

Alte antigene tumorale umane sînt bine demonstrate a fi antigene embrionare : *antigenul carcinoembrionar* prezent în neoplaziile de tub digestiv : *α-fetoproteina* descrisă la bolnavii cu hepatoame sau carcinoame embrionare : *γ-fetoproteina* care apare în unele tumori maligne, dar poate fi găsită și în cazuri cu tumori benigne.

În cadrul antigenelor tumorale umane de cercetări speciale au beneficiat tumorile prin virus Epstein-Barr (VEB), care dețin rol patogenic în limfomul african (limfomul Burkitt) (Klein, 1975). *In vitro*, în culturi de celule infectate cu VEB, s-au identificat patru tipuri de antigene : unele precoce, care indică intrarea celulei în ciclu litic, altele de membrană și de capsidă virală, și antigenul nuclear specific VEB (EDNA) ; acest ultim antigen este expresia integrării genomului viral în genomul celulei-gazdă. Cercetări minuțioase pe biopsii de limfom Burkitt și de neoplasme nasofaringiene au demonstrat prezența de EDNA în nucleul celulelor maligne.

Puterea antigenică a tumorilor variază de la un tip de neoplazie la alta, precum și cu ciclul celular, fiind maximă probabil în faza G_1. În cadrul aceleiași tumori se constată un mozaic celular cu grade diferite de antigenicitate. Sub influența reacțiilor imune specifice ale organismului-gazdă se poate produce o modulare antigenică, proliferînd numai celulele cu antigenicitate slabă sau chiar fără antigene tumorale asociate.

Prezența acidului sialic pe suprafața membranei pare să joace un rol important în antigenicitatea și/sau imunogenicitatea celulelor tumorale.

Deși prezența antigenelor asociate tumorii a fost bine demonstrată, rolul acestora în procesul de transformare malignă a celulelor nu este precizat. Există unele experimente care arată o relație la nivelul membranei celulare între malignitate, antigenicitate și imunogenicitate. Astfel, concanavalina poate aglutina diverse tipuri de celule tumorale, dar nu aglutinează celulele normale, decît dacă acestea au fost tratate cu tripsină. În concentrații mari concanavalina crește imunogenicitatea antigenelor tumorale asociate.

B. *Relațiile gazdă—tumoră*

Din observațiile clinice, dar mai ales din cercetările experimentale, reiese că organismul reacționează față de tumora primară sau cea transplantată ca față de o homogrefă. Această reacție poate merge de la totala rejecție a tumorii pînă la favorizarea creșterii celulelor neoplazice. Aceste diferențe de reacție sînt legate pe de o parte de puterea antigenică a tumorii, iar pe de altă parte de calitatea reacției organismului.

Reacțiile de imunitate antitumorală (v. cap. III, G) cuprind răspunsul umoral prin anticorpi și răspunsul celular.

Imunitatea de tip umoral. Prezența anticorpilor antitumorali în sîngele periferic a fost pusă în evidență în numeroase tumori spontane sau induse, primare sau transplantate. Rolul anticorpilor în inhibarea sau distrugerea celulelor maligne variază însă după tipul neoplaziei. Anticorpii antitumorali specifici sînt activi în special în distrugerea celulelor leuce-

mice sau sarcomatoase induse prin virusuri RNA. Capacitatea citotoxică a anticorpilor dependenți de complement pare să fie legată de trei variabile : cantitatea de antigen specific de suprafață, tipul de Ig implicat în răspunsul imun și accesibilitatea anticorpilor și complementului la antigenele celulare de suprafață (v. cap. III, G).

Prin analogie cu alte sisteme litice se poate face afirmația că anticorpii de tip IgM ar avea o acțiune litică mai puternică asupra celulei tumorale.

În patologia umană au fost descriși anticorpi cu caracter citotoxic în neuroblastoame, cancere de colon, melanoame, sarcoame (Hellström, 1974). De remarcat că s-au găsit anticorpi citotoxici la 70% din bolnavii cu sarcoame, dar și la 58% din membrii familiilor acestor bolnavi, rude care nu prezentau nici un simptom de boală.

În unele cazuri de melanoame, sarcoame sau neuroblastoame, anticorpii citotoxici au fost găsiți în circulație numai după extirparea sau regresia tumorii. Probabil că după îndepărtarea masei tumorale excesul de antigen se elimină și anticorpii rămîn liberi, trec în circulație și pot fi puși in evidență. Rolul acestor anticorpi în prevenirea micometastazelor a fost demonstrat experimental (Proctor și colab., 1973).

La bolnavii cu limfom Burkitt în remisiune s-au pus în evidență anticorpi anti-antigen de membrană intr-un titru relativ stabil. Concentrația acestor anticorpi scade mult cu citeva luni înaintea recăderilor (Klein, 1975).

Imunitatea de tip celular este predominantă în cazul tumorilor asemănător cu cea din transplantare (v. cap. III, F și G). Eficiența crescută a imunității mediată celular a fost remarcată în tumorile de sîn cu infiltrații interstițiale limfocitaro-macrofagice, care au un prognostic mai bun. De asemenea, în boala Hodgkin, forma cu predominanță limfocitară are o evoluție mai favorabilă decît cea cu depleție limfocitară.

Experimental, rejecția tumorii transplantate este precedată de apariția unor infiltrate limfocitare masive, iar în ganglionii regionali se constată o hiperplazie evidentă de celule imunoblastice.

Acțiunea inhibitorie a limfocitelor T sensibilizate asupra dezvoltării tumorale a fost bine demonstrată experimental atît *in vivo*, cît și *in vitro*. Mecanismele de acțiune au fost studiate *in vitro* prin metode de microcitotoxicitare, inhibiția coloniilor, testul eliberării de ^{51}Cr etc.

Podleski (1976) descrie 3 tipuri de citotoxicitate mediată celular :

a) Prin limfocite T sensibilizate, care au ca celule țintă pe cele ce prezintă antigene tumorale de membrană. Prezența de limfocite T citotoxice a fost demonstrată în sisteme experimentale tumorale puternic antigenice, precum și în unele tumori umane cum ar fi limfomul Burkitt.

b) Citotoxicitatea celulară mediată prin anticorpi, realizată de limfocite de tip „nul" (fără markeri de tip B sau T), monocite, macrofage și uneori chiar celule polimorfonucleare (v. cap. III, C, E și G).

În splina de șoarece s-a mai descris o celulă capabilă să producă citotoxicitate ; această celulă nu are nici un marker T sau B și nici receptori pentru fragmentul Fc. Ele au fost denumite „natural killer" și par să dețină un rol important în apărarea antitumorală la șoarece.

c) Citotoxicitatea prin limfokine (v. cap. II, A) este realizată prin limfotoxine eliberate de limfocite stimulate de endotoxine, mitogeni de tip fitohemaglutinină, *pokeweed*. În acest proces, contactul dintre limfocit și celula țintă nu este întotdeauna necesar.

Un rol din ce în ce mai important în apărarea anticanceroasă este atribuit macrofagului (v. cap. III, G). Observația clinică și morfologică a arătat că o infiltrație macrofagică și histiocitară a ganglionilor regionali sînt un factor de prognostic favorabil în cancerul de sîn. De asemenea, s-a demonstrat că infiltrația celulară din tumorile puternic antigenice este alcătuită în proporție de 60% din macrofage, iar scăderea macrofagelor în tumori este asociată cu o creștere a metastazărilor. Această acumulare de macrofage este o parte a procesului de răspuns la antigenele tumorale și este probabil T-dependentă.

În mecanismul de distrugere tumorală, macrofagul joacă un rol indirect, prin activarea limfocitelor B și T, și altul direct citotoxic (v. cap. II, C și III G). Macrofagele activate (v. cap. II, C) dobîndesc proprietăți citotoxice nespecifice pentru o varietate mare de celule tumorale.

În patologia umană, testele *in vitro* au pus în evidență prezența de limfocite sensibilizate specific într-un număr important de tumori : melanoame maligne, neuroblastoame, cancere de colon, de sîn, de testicul, endometru, limfoame Burkitt, leucemii acute. Hellström și colab. (1971) afirmă că practic toți bolnavii cu tumori au limfocite sensibilizate specific antitumoral ; reactivitatea limfocitelor nu poate fi însă corelată cu stadiul evolutiv al bolii, ea fiind asemănătoare la bolnavii cu tumori evolutive, ca și la cei cu remisiuni sau cu tumori extirpate.

Supravegherea imună. Pornind de la demonstrarea mecanismelor imune antitumorale, Burnet (1971), dezvoltînd o idee a lui Ehrlich din 1909, postulează ideea ,,supravegherii imune'' : sistemul imun al unui organism este capabil de a recunoaște și de a elimina precoce o celulă tisulară care, suferind o mutație, devine neoplazică (v. cap. I, C).

Conform acestei teorii purtătorii unui deficit imun congenital sau cîștigat ar trebui să prezinte un procent crescut de tumori maligne, față de populația normală. Copiii cu deficite imune congenitale, în special cei cu sindrom Wiscott-Aldrich, ataxie-teleangiectazică și sindrom Bloom prezintă neoplazii în peste 10% din cazuri, ceea ce depășește cu mult procentul de la copii normali. Trebuie subliniat însă că marea majoritate a neoplaziilor din acest grup de bolnavi este reprezentată de leucemii și limfoame, deci neoplazii ale sistemului celular al imunității. Mecanismul de producere a acestor proliferări poate să nu fie legat numai de deficitul imun. În unele boli imunodeficitare congenitale s-a descris prezența unor anomalii cromosomiale limfocitare, care, după Louie și Schwartz (1978), pot constitui o explicație a predispoziției la neoplazii în aceste afecțiuni.

La bolnavii cu deficite imune cîștigate și în special la cei supuși la tratamente cronice imunosupresive pentru transplante renale se observă un fenomen asemănător. Din 6 297 de bolnavi la care s-a efectuat transplant renal, 17 au dezvoltat limfoame maligne, marea majoritate de tip histiocitar și cu localizare preferențială în creier și măduva spinării. Explicațiile pot fi multiple și variate : acțiunea cancerigenă a substanțelor imunodepresive, favorizarea infecțiilor virale de tip herpetic și/sau dereglarea răspunsului imun. În această ultimă ipoteză, existența unei stimulări antige-

nice persistente asociată cu o imunodeficiență poate duce la apariția de limfoame maligne, fapt demonstrat experimental. Persistența stimulării antigenice și tulburările de feed-back în reglarea proceselor imune pot fi responsabile de apariția limfoamelor maligne în sindromul Sjögren, precum și în infecțiile cronice cu disglobulinemii (Krueger și colab., 1971).

Reacții care favorizează creșterea tumorală. În cadrul relațiilor gazdă—tumoră s-au descris o serie de mecanisme care protejează celula tumorală și care induc fenomenul de „scăpare" a tumorii. Kaliss a fost unul dintre primii autori care a studiat acest fenomen, vorbind chiar de o amplificare („enhancement") a creșterii tumorale. Astăzi aceste mecanisme sînt universal recunoscute, dar nu și complet elucidate. La procesele imune care pot favoriza creșterea tumorală participă, după Alexander (1976), atît inhibiții centrale, cît și efectoare ale răspunsului imun.

Inhibiția centrală a răspunsului imun consideră posibilă existența unei toleranțe imune genetice sau dobîndite în dezvoltarea tumorilor. S-a demonstrat însă la șoarece existența unui răspuns imun antitumoral, infirmînd ipoteza toleranței imune (Hollis și colab., 1974).

A fost incriminată de asemenea paralizia imună ca factor favorizant al creșterii tumorale. Trebuie însă menționat că, la om, în marea majoritate a cazurilor s-au pus în evidență existența de reacții antitumorale; iar energia care apare în formele generalizate ale bolii canceroase este o consecință și nu o cauză a dezvoltării tumorale.

Inhibiția ramurii efectoare a răspunsului imun se bazează pe existența unor regiuni anatomice care nu sînt accesibile mecanismelor efectoare ale răspunsului imun. În aceste regiuni infecțiile microbiene se dezvoltă neinfluențate de răspunsul imun. De asemenea, s-a constatat că nu există o distribuție egală a celulelor citotoxice, ele apărînd numai trecător în limfă (Grant și colab., 1974).

În 1962, Kaliss a demonstrat că serul imun specific are o acțiune de potențare a creșterii tumorale, iar serul purtătorilor de tumori este capabil de a inhiba *in vitro* acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate. Hellström și colab. (1969) au emis ipoteza *anticorpilor blocanți*, care pot îmbrăca celula țintă, scoțînd-o astfel de sub acțiunea factorilor celulari citotoxici. În 1974, aceiași autori implică în acțiunea blocantă complexele antigen—anticorp. Aceste teorii nu sînt susținute de faptul demonstrat că și serul animalelor agamaglobulinemice conține factori blocanți. Cercetarea prezenței complexelor antigen—anticorp în sîngele bolnavilor cu hemopatii maligne a dat rezultate contradictorii: Sodoman și colab. (1979) găsesc o corelație între prezența de CI și evoluția bolii, în timp ce Heier și colab. (1979) nu găsesc nici o corelație între acești parametri.

Alte ipoteze implică drept factori blocanți antigenele solubile, care sînt capabile de a inhiba atît imunitatea anticorpică, cît și cea celulară (Currie și Basham, 1972). Aceste antigene apar în circulație fie prin eliminare spontană fie ca urmare a autolizei celulelor tumorale. Ele ar forma în jurul celulelor neoplazice o atmosferă care le poate „camufla" față de mecanismele de apărare ale organismului-gazdă. Eliminarea spontană de antigen solubil de către celulele tumorale a putut fi pusă în evidență *in vitro* și autorii au găsit o bună corelație între cantitatea de antigen solubil eliminat și capacitatea de metastazare a celulelor tumorale respective.

S-a demonstrat însă că nu numai anticorpii pot avea efect de potenţare a creşterii tumorii, ci şi limfocitele. În sisteme experimentale, s-a demonstrat că limfocitele splenice sensibilizate, autologe sau singenice pot favoriza *in vitro* creşterea celulelor tumorale. La om, în culturi de celule de leucemie acută mieloblastică, unele limfocite izologe normale pot potenţa creşterea celulelor maligne, în timp ce altele o inhibă (Berceanu şi Gociu, 1973).

La şoarecii purtători de tumori experimentale s-a demonstrat prezenţa unor celule capabile să inhibe răspunsul imun antitumoral. Aceste celule, prezente în splina şi ganglionii animalelor purtătoare de tumori, sînt evidenţiabile în fazele de creştere a tumorilor şi scad pînă la dispariţie în perioadele de remisiune sau după îndepărtarea chirurgicală a tumorilor. Aceste celule supresoare ale răspunsului imun nu aparţin unui singur tip celular. Ele pot fi macrofage (Kirchner şi colab., 1976) sau să aparţină unei subpopulaţii de limfocite T (Border şi Waldmann, 1978). Acţiunea limfocitelor supresoare pare a fi controlată de zona *I—J* a sistemului H-2 de la şoarece, iar acţiunea supresoare a macrofagelor pare legată de sintetizarea de prostaglandine.

Cercetările la om au pus în evidenţă prezenţa de limfocite T supresoare în sîngele circulant la 4 din bolnavi cu osteosarcom. Din cei 4 bolnavi cu celule supresoare, 3 prezentau metastaze (Yu şi colab., 1977).

Trebuie menţionat că acţiunea supresoare a tuturor acestor celule a fost demonstrată numai *in vitro* sau în sisteme experimentale, fiind încă dificilă afirmarea rolului lor în dezvoltarea tumorilor umane.

Influenţa tumorii asupra sistemului imun al organismului gazdă. Cercetările clinice şi experimentale au demonstrat că dezvoltarea tumorală produce o scădere a capacităţii imune a organismului gazdă, scădere deosebit de evidentă în neoplaziile sistemului limfoid şi prezentă în fazele avansate ale tuturor tumorilor maligne.

În *proliferările celulelor limfoide de tip B* (leucemie limfatică cronică, limfoame, mielom multiplu, boală Waldenström) este deprimat pe prim plan răspunsul umoral anticorpic de tip primar. Dacă explicaţia este destul de clară pentru leucemia limfatică cronică şi chiar în limfoame, unde avem de a face cu o proliferare de limfocite B nereactive la stimuli specifici şi nespecifici, mai dificil de înţeles este mecanismul inhibiţiei umorale în mielomul multiplu. În această afecţiune, limfocitele B circulante nu au caracter malign şi totuşi sinteza de imunoglobuline este scăzută. Limfocitele B circulante ar sintetiza, ca şi plasmocitele proliferate tumoral, tot imunoglobulină patologică mielomatoasă lipsită de proprietăţi antigenice. Există unele cercetări experimentale care tind să arate că celulele mielomatoase elimină în circulaţie molecule de RNA informaţional, capabile de a induce în limfocitele B normale sinteza de Ig patologice (Currie şi Alexander, 1974). Alţi autori (Border şi Waldmann, 1978) au demonstrat prezenţa de celule supresoare de tip non-I (macrofage şi alte celule diferite), care par să joace şi ele un rol în deficitul umoral din mielomul multiplu.

În *boala Hodgkin* s-a pus în evidenţă existenţa unui deficit imun celular, manifestat prin întîrzierea rejecţiei homogrefei de piele, precum şi prin scăderea reacţiilor imune tardive secundare (negativarea intrader-

moreacțiilor la PPD, la candida etc.) și primare (lipsa de răspuns imun la DNCB). Testul de transformare blastică a limfocitelor *in vitro* la PHA este slab. Cercetări recente (Hillinger și Herzig, 1978) au revelat prezența de celule supresoare (T și macrofage) în sîngele bolnavilor cu boală Hodgkin. Există unele date preliminare asupra codificării genetice a acestui mecanism supresor, fiind restrîns numai la produsele asociate cu regiunea HLA-D (Engelman și colab., 1978).

Modificări de imunitate, în special de tip celular, au fost descrise într-o mare varietate de tumori solide, modificări prezente în special în fazele avansate de boală. O explicație a acestor modificări este oferită de demonstrarea prezenței de celule supresoare în sîngele acestor bolnavi, celule de cele mai multe ori de tip macrofagic și rareori limfocite (Zembala și colab., 1977). S-a demonstrat că una din substanțele prin care macrofagul își exercită acțiunea supresoare este prostaglandina E_2 (Goodwin și colab., 1977). Există însă și celule tumorale care au capacitatea de a sintetiza prostaglandine (Easty, 1977). Administrarea de indometacină, inhibitoare a prostaglandin-sintetazei, poate reface răspunsul imun la animalele de experiență și poate normaliza *in vitro* răspunsul blastogenic al limfocitelor la unii bolnavi cu boală Hodgkin.

În *bolile proliferative ale sistemului limfohistiocitar*, în general, și în leucemia limfatică cronică, în special, pot apărea o serie de boli autoimune, reprezentate în primul rînd de anemia hemolitică autoimună (v. cap. VII, H). De asemenea, mai pot apărea trombocitopenii cu caracter autoimun. Apariția acestor afecțiuni autoimune poate fi legată de modificarea mecanismelor de feed-back, cu proliferarea de clone celulare interzise sau chiar patologice.

S-au mai comunicat asocieri de boli maligne ale sistemului limfohistiocitar cu boli de colagen, în proporții mai mari decît în populația normală.

În ultimii ani, mai ales după tratamente intensive, se constată din ce în ce mai frecvent asocierea unei a doua neoplazii la bolile maligne ale sistemului hemo- și limfopoietic. În patogenia acestor complicații se pot incrimina atît modificările reacțiilor imune, cît și tratamentul specific (iradiant și/sau citostatic), care are proprietăți mutagene, cancerigene.

C. Imunoterapia anticanceroasă

Plecînd de la constatarea unei antigenicități tumorale specifice și a existenței unei reacții imune a gazdei contra tumorii, s-au încercat, atît experimental, cît și clinic, numeroase tratamente avînd drept scop potențarea răspunsului imun antitumoral. Trebuie subliniat însă că nici o reacție imună nu poate controla o tumoră bine dezvoltată, deoarece asemenea reacții nu acționează efectiv decît pe un număr redus de celule neoplazice, număr care probabil variază de la tumoră la tumoră și este în jur de 10^5 celule. Din aceste motive, astăzi nu se poate vorbi decît de o terapie combinată: tratament chirurgical, iradiant și/sau citostatic în vederea scăderii cît mai importante a volumului tumoral și apoi tratament imun.

În mare, metodele imune de tratament sînt imunoterapia adoptivă și imunoterapia activă.

Imunoterapia adoptivă. Prin această metodă se încearcă efectuarea unui transfer de anticorpi sau celule citotoxice de la un donor sensibilizat la un primitor purtător de aceeași tumoră.

Transferul de anticorpi a dat unele rezultate în neoplaziile experimentale, mai ales în leucemiile cu virusuri RNA. La om, încercările efectuate au fost decepționante. În ultimul timp însă, această metodă de tratament a intrat într-o nouă fază experimentală, încercîndu-se legarea anticorpilor specifici anticelulă tumorală la agenți citotoxici variați (substanțe organice, substanțe radioactive, toxine biologice, enzime), cu scopul de a obține o selectivitate a acestor substanțe pentru celula neoplazică, evitîndu-se concomitent lezarea celulelor normale. În patologia umană s-a întrebuințat clorambucil legat cu anticorpi specifici în tratamentul melanomului malign, cu rezultate încurajatoare (Ghose și colab., 1976).

Transferul de celule potențial citotoxice s-a făcut atît prin grefe de măduvă osoasă și concentrate leucocitare totale, cît și prin limfocite izolate. La animale s-au obținut unele rezultate prin grefele de măduvă osoasă, dar rezultatele la om au fost decepționante. La bolnavii cu leucemii acute limfoide, administrarea de măduvă sau limfocite normale, recoltate de la frați histocompatibili, este urmată uneori de recăderi foarte rapide, ca urmare a leucemizării limfocitelor normale introduse în scop terapeutic.

Pornind de la ipoteza că practic limfocitele oricărui bolnav cu cancer sînt sensibilizate față de propria tumoră, s-a încercat reintroducerea de limfocite autologe, după aplicarea unui tratament tumoricid.

În imunoterapia pasivă s-a încercat de asemenea introducerea de RNA specific imun, obținut din țesut limfoid sensibilizat. Metoda a dat unele inhibiții ale creșterii tumorale în tumori experimentale.

O altă metodă de tratament experimentală este inocularea de *factor de transfer*, substanță produsă de limfocitele T sensibilizate (v. cap. II, A) și care ar avea proprietatea de a activa imunitatea celulară specifică și anume citotoxicitatea mediată de limfocitele T, hipersensibilitatea cutanată de tip tardiv, fenomenele de peripoleză a limfocitelor față de celulele tumorale țintă. Prin această metodă s-au comunicat unele rezultate terapeutice în sarcoame osteoblastice (Fudenberg, 1976); rezultatele trebuie însă analizate cu multă atenție, întrucît unele dintre aceste sarcoame sînt sensibile la citostatice.

Imunoterapia activă are drept scop mărirea reacției gazdei față de tumoră. Această reacție nu este eficace fie pentru că tumora nu este suficient de antigenică, fie că în reacțiile imune predomină fenomenele care favorizează procesele de creștere tumorală.

Excizia chirurgicală, tratamentul celor mai multe neoplasme umane, este de asemenea și o metodă de potențare imună. Scăderea de volum a masei antigenice tumorale, precum și eventuala îndepărtare a mecanismelor supresoare, favorizează procesele imune active antitumorale.

Imunoterapia specifică are drept scop creșterea antigenicității tumorii prin vaccinări cu celule neoplazice. Primele încercări cu aceste vaccinări au fost efectuate încă din 1909, dar numai în ultima decadă ele au fost introduse pe scară mai mare în patologia umană. Mathé(1976) a efectuat vaccinări cu celule leucemice și BCG la copii cu leucemie acută limfoblastică, după inducere de remisiuni complete prin chimioterapie. Vaccinările au avut drept rezultat prelungirea duratei medii de remisiune.

Ulterior, Powles (1976) introduce vaccinările cu celule leucemice și BCG la bolnavi cu leucemie mieloidă acută intrați în remisiune, tratament ce dublează durata remisiunilor.

Pentru creșterea capacității antigenice a celulelor tumorale întrebuințate pentru vaccinări s-a încercat tratarea lor cu neuraminidază, enzimă ce îndepărtează acidul sialic de pe membrana celulară. La om s-a încercat la bolnavi cu leucemie acută mieloblastică vaccinarea cu celule leucemice tratate cu neuraminidază, rezultatele fiind promițătoare. S-au făcut și unele încercări de vaccinare în neoplasme solide, ca cele de cap și gît, cancer bronșic, dar experimentele sînt de scurtă durată și nu sînt încă concludente.

Imunoterapia activă nespecifică se bazează pe stimularea nespecifică a sistemului imun. Metoda cea mai frecvent întrebuințată este vaccinarea cu BCG. Aceste vaccinări, efectuate la animale în perioada de latență a unei infecții cu virus oncogen, scad incidența apariției tumorilor.

În patologia umană, BCG a fost întrebuințat în diferite forme de neoplasme, singur sau asociat cu vaccinări cu celule tumorale. Rezultatele din leucemiile acute au fost expuse anterior. Introducerea vaccinărilor cu BCG la bolnavii cu limfoame nehodgkiniene pare a prelungi remisiunile obținute prin tratamentele citostatice (Sokal și colab., 1974).

Rezultate bune au mai fost comunicate în melanoamele maligne, unde vaccinările cu BCG în asociere cu tratamentul cu dicarbazonă dă o prelungire substanțială a remisiunilor (Gutterman și colab., 1976).

În cancerele de sîn și cele bronșice s-au încercat vaccinări cu *Corynebacterium parvum*, obținîndu-se prelungiri ale remisiunilor și supraviețuirilor. În cancerele de piele, imunoterapia cu BCG poate da rezultate foarte bune, care merg de la regresii tumorale pînă la vindecări (Klein și colab., 1976).

În ultimul timp s-a încercat efectuarea de vaccinări cu MER-BCG, un extract metanolic din bacilul Calmette Guerin. Această substanță ar avea același efect, de stimulator nespecific, necesitînd doze mai mici de aplicare.

În cadrul imunoterapiei nespecifice trebuie menționat și tratamentul cu levamisol. Această substanță antihelmintică pare să aibă proprietăți imunomodulatoare prin activarea limfocitelor T, formatoare de rozete E.

Pînă în prezent nu s-au precizat definitiv locul și rolul imunoterapiei în tratamentul tumorilor, deoarece nu sînt cunoscute suficient mecanismele imune și neimune ce intervin în creșterea tumorală. Cunoașterea mai aprofundată a balanței între mecanismele efectoare și supresoare ale răspunsului imun antitumoral, ca și influența pe care o pot avea stimulările imune active asupra uneia sau alteia dintre cele două componente, ne vor da indicații asupra aplicării unei imunoterapii mai eficiente.

Ulterior, Powles (1976) introduce vaccinările cu celule leucemice şi BCG la bolnavi cu leucemie mieloidă acută intraţi în remisiune, tratament ce dublează durata remisiunilor.

Pentru creşterea capacităţii antigenice a celulelor tumorale întrebuinţate pentru vaccinări s-a încercat tratarea lor cu neuraminidază, enzimă ce îndepărtează acidul sialic de pe membrana celulară. La om s-a încercat la bolnavi cu leucemie acută mieloblastică vaccinarea cu celule leucemice tratate cu neuraminidază, rezultatele fiind promiţătoare. S-au făcut şi unele încercări de vaccinare în neoplasme solide, ca cele de cap şi gît, cancer bronşic, dar experimentele sînt de scurtă durată şi nu sînt încă concludente.

Imunoterapia activă nespecifică se bazează pe stimularea nespecifică a sistemului imun. Metoda cea mai frecvent întrebuinţată este vaccinarea cu BCG. Aceste vaccinări, efectuate la animale în perioada de latenţă a unei infecţii cu virus oncogen, scad incidenţa apariţiei tumorilor.

În patologia umană, BCG a fost întrebuinţat în diferite forme de neoplasme, singur sau asociat cu vaccinări cu celule tumorale. Rezultatele din leucemiile acute au fost expuse anterior. Introducerea vaccinărilor cu BCG la bolnavii cu limfoame nehodgkiniene pare a prelungi remisiunile obţinute prin tratamentele citostatice (Sokal şi colab., 1974).

Rezultate bune au mai fost comunicate în melanoamele maligne, unde vaccinările cu BCG în asociere cu tratamentul cu dicarbazonă dă o prelungire substanţială a remisiunilor (Gutterman şi colab., 1976).

În cancerele de sîn şi cele bronşice s-au încercat vaccinări cu *Corynebacterium parvum*, obţinîndu-se prelungiri ale remisiunilor şi supravieţuirilor. În cancerele de piele, imunoterapia cu BCG poate da rezultate foarte bune, care merg de la regresii tumorale pînă la vindecări (Klein şi colab., 1976).

În ultimul timp s-a încercat efectuarea de vaccinări cu MER-BCG, un extract metanolic din bacilul Calmette Guerin. Această substanţă ar avea acelaşi efect, de stimulator nespecific, necesitînd doze mai mici de aplicare.

În cadrul imunoterapiei nespecifice trebuie menţionat şi tratamentul cu levamisol. Această substanţă antihelmintică pare să aibă proprietăţi imunomodulatoare prin activarea limfocitelor T, formatoare de rozete E.

Pînă în prezent nu s-au precizat definitiv locul şi rolul imunoterapiei în tratamentul tumorilor, deoarece nu sînt cunoscute suficient mecanismele imune şi neimune ce intervin în creşterea tumorală. Cunoaşterea mai aprofundată a balanţei între mecanismele efectoare şi supresoare ale răspunsului imun antitumoral, ca şi influenţa pe care o pot avea stimulările imune active asupra uneia sau alteia dintre cele două componente, ne vor da indicaţii asupra aplicării unei imunoterapii mai eficiente.

Bibliografie

AARDEN L. A., LAKMAKER F., DE GROOT E. R. şi colab., 1975, Scand. J. Rheumat., suppl. 11, 12. ABRAMSEN T. G., FROLAND S., NATUIG J. B., 1978, Scand. J. Immunol., *7*, 81. ADAM C., MOREL-MAROGER L., RICHET G., 1973, *3*, 334. ADAMS D. D., 1977, în *Immunology in medicine*, sub red. E. J. HOLBOROW şi W. G. REEVES, Academic Press, Londra, p. 373. ADAMS D. D., FASTIER E. N., HOWIE J. B., et al., 1974, J. Clin. Endocr. Metab., *39*, 826. ADAMS D. D., DIRMIKIS S., DONIACH D. şi colab., 1975, Lancet, *1*, 1 201. AGNELLO V., 1976, în *Manual of clinical immunology*, sub red. N. ROSE şi H. FRIEDMAN, Am. Soc. Microbiol., Washington D. C., p. 699. AGNELLO V., KOFFLER D., KUNKEL G., 1973, Kidney Int., *3*, 90. AKIZUKI M., POWERS R., HOLMAN H. R., 1977, J. Clin. Invest., *59*, 264. ALARÇON-SEGOVIA D., FISHBEIN E., GARCIA-ORTIGOZA E., ESTRADA-PANA S., 1975, Lancet, *1*, 363. ALEXANDER P., 1976, în *The immune system*, sub red. M. J. HOBART şi I. MCCONNELL, Blackwell Scient. Publ., Oxford, p. 296. ALLEN B. R., REEVES W. G., 1977, în *Immunology in medicine*, sub red. E. J. HOLBOROW şi W. G. REEVES, Academic Press, Londra, p. 781. ALLISON A. C., 1974, în *Immunological tolerance*, sub red. D. H. ZATZ şi B. BENACERRAF, Academic Press, New York, p. 25. ALKJAERSIG M. K., FLECHTER A. P., LEWIS M. L. şi colab., 1976, Kidney Int., *10*, 319. ALMEIDA J. D., RUBENSTEIN D., STOTT E. J., 1971, Lancet, *2*, 1 225. ALPER C. A. ABRAMSON N., JOHNSTON R. B., JANDL J. H., 1970, J. Clin. Invest., *49*, 1 975. ALSPAUGH M. A., TALAL N., TAN E. M., 1976, Arthritis Rheum., *19*, 216. ALVORE R. C., HSU P. C., THORN R., 1974, Arch. Neurol., *30*, 216. ANDERSON C. I., ROSE N. R., 1971, J. Immunol., *107*, 1 341.

BAGDADE J. D., STEWARD M., 1976, Clin. Res., *110*, 1 455. BALDWIN D. S., GLUCK M. C., LOWENSTEIN J. şi colab., 1977, Am. J. Med., *62*, 12. BALLET J. J., INSEL R., MERLER E., ROSEN F. S., 1976, J. exp. Med., *143*, 1 271. BALLOW M., SCHIRA J. E., HARDEN L. şi colab., 1975, J. Clin. Invest., *56*, 703. BARON S., DIANZANI F., 1977, Tex. Rep. Biol. Med., *35*, 10. BAYER A. S., THEOFILOPOUS A. N., EISENBERG R., DIXON F. J., GUZE L. B., 1976, N. Engl. J. Med., *295*, 1 500. BEAUCHER W. N., GARMAN R. H., CONDEMI J. J., 1977, N. Engl. J. Med., *296*, 982. BEIRNE G. J., KOPP W. L., ZIMMERMAN S. W., 1973, Arch. Int. Med., *132*, 261. BELL C. A., ZWICKER H., SACKS H. J., 1973, Am. J. Clin. Path., *60*, 903. BENVENISTE J., HENSON P. M., COHRANE C. J., 1972, J. exp. Med., *136*, 1 356. BERCEANU ŞT., 1964, în *Probleme de hepatologie*, Edit. Medicală, Bucureşti, p. 58 ; 1967, *Sistemul reticulo-endotelial*, sub red. ŞT. BERCEANU, M. GOGIU, P. GROZEA, Edit. Medicală, Bucureşti, p. 117 ; 1968, în *Imunologie şi imunopatologie*, sub redacţia I. MESROBEANU şi ŞT. BERCEANU, Edit. Medicală, Bucureşti, p. 357, 487, 507 şi 531 ; 1971, Microbiol., Parazitol., Epidemiol., *1*, 77 ; 1975, în *Imunobiologie, imunochimie, imunopatologie*, sub red. I. MESROBEANU şi ŞT. BERCEANU, Edit., Academiei, Bucureşti, p. 232, 249, 293, 302, 307, 388, 398, 433 ; 1977, *Hematologie clinică*, Edit. Medicală, Bucureşti, p. 306 şi 584. BERCEANU ŞT., SĂSĂRMAN M., IONĂŞESCU R., 1958, Med. Int., *8*, 1167. BERCEANU ŞT., DEGERATU T., 1959, Med. Int., *4*, 537. BERCEANU ŞT., ILIESCU M., RADU I., HERGOT L., 1962, Simp. *„Hepatita cronică consecutivă hepatitei epidemice" — rezumate*, Bucureşti, p. 32. BERCEANU ŞT., ILIESCU M., RADU L., HERGOT L., 1963, Arch. roum. Path. Exp. Microb., *22*, 417. BERCEANU ŞT., POPESCU I. GR., GOGIU M., 1965, în *Volum omagial acad. N. Gh. Lupu*, Edit. Academiei, Bucureşti, p. 577. BERCEANU ŞT., RĂILEANU I., MOMICEANU D., 1966, Rev. roum. Méd. Int., *3*, 305. BERCEANU ŞT., GOGIU M., RĂILEANU I., 1969, în *Biologia celulelor sistemului limfo-reticulo-hematopoietic*, Edit. Academiei, Bucureşti, p. 105. BERCEANU ŞT., GOGIU M., 1973, Rev. roum. Méd. Int., *10*, 75. BERCEANU ŞT., MARINESCU-HALUNGA S., GHEORGHIU M., GOGIU M., 1973, in *II-nd Meeting of the International Society Hematology, Abstracts*, Praga, p.

21 — c. 825 19

J. Cancer, *33*, 137. TEILUM G., 1964, Acta Med. Scand., suppl. 425, 14. TEODORESCU P., BERCEANU Şt., HERGOT L., 1961, *Conferința Națională de hematologie, Rezumate*, București, p. 198. THOMAS H. C., MAC SWEEN R. N., WHITE R. G., Lancet, *2*, 1 288. TOMAZIC V., ROSE M. R., 1975, Clin. Immunol. Immunopath., *4*, 511. THOMSON R. A., WHITE R. H. R., 1973, Lancet, *2*, 679. TRIGER D. R., ALP M.H., WRIGHT R., 1972, Lancet, *1*, 60. TUNG K. S. K., BLACK W. C., 1975, Lab. Invest., *32*, 698.

URBASZEK W., ASCHERMANN I., TAUTENHAHN B., 1970, Ges. Inn. Med., *25*, 795. UTERMOHLEN W., ZABRIESKIE J. B., 1973, J. exp. Med., *138*, 1 591. UTSINGER P. D., 1976, Arth. Rheum., *19*, 88.

VALLOTA E. H., FORRISTAL J., SPITZER R. E., 1970, J. exp. Med., *131*, 1 306. VALLOTA E. H., GÖTZE O., SPIEGELBERG H. L., 1974, J. exp. Med., *139*, 1 249. VAN DE PUTTE B. A., DE LA RIVIERE G. B., VAN BREDA VRIESMAN P. J., 1974, Immunol., *290*, 1 165. VERNACE S. J., PARONETTO F., SCHAFFNER F., 1971, Gastroenterol., *60*, 182. VERNIER R. L., RESNICK J. S., MAUER S. M.,1975, Kidney Int., *7*, 224. VLĂDUȚIU A. O., ROSE N. R., 1971, J. Immunol., *106*, 1 139.

WAKSMAN B. H., 1965, Ann. N. Y. Acad. Sci., *244*, 299. WALDENSTROM J., 1962, Progr. Allergy, *6*, 320. WALDMAN T. A., BRODER S., BLAESER M., 1974, Lancet, *11*, 609. WALLACE M., LEET G., ROTHVELL P., 1974, Austr. N. Z. J. Med., *4*, 192. WARD P. A., HILL J. H., 1970, J. Immunol., *104*, 535. WARREN H. S., WEIDANZ W. P., 1976, Europ. J. Immunol., *6*, 816. WEED R. I., 1970, Am. J. Med., *49*, 147. WEIGLE W. O., 1967, Immunol., *13*, 241 ; 1975, Adv. Immunol., *21*, 87. WEINER W., VOS G. H., 1963, Blood, *22*, 606. WEISSMANN G., ZURIER R. B., SPIELER P. J., GOLDSTEIN I. M., 1971, J. exp. Med., *134*, 149. WEISSMANN G., ZURIER R., HOFFSTEIN S., 1972, Am. J. Path., *68*, 539. WELSH R. M., COOPER N. R., JENSEN F. C., 1975, Nature, *257*, 612. WESTBERG N. G., SIMMONS R. L., RAIJL L. şi colab., 1971, Transplant., *12*, 464. WILLIAMS B. D., CLARKSON A. R., GROVES R. J., LESSOF M. M., 1975, J. Immunol. Method., *7*, 219. WILSON C. B., DIXON F. J., 1970, J. Immunol., *105*, 279 ; 1971, J. exp. Med., *134*, 7 ; 1973, Kidney Int., *3*, 74 şi 1974, *5*, 389. WILSON C. B., EVANS A. S., DIXON F. J., GLASSOCK R. J., 1973, Clin. Immunol. Immunopath., *2*, 121. WINCHESTER R.J., AGNELLO V., KUNKEL H. G., 1970, Clin. exp. Immunol., *6*, 689 ; 1971, J. exp. Med. *134*, 286. WINKELSTEIN A., RODNAN P. G., HEILMAN D. J., 1972, *31*, 126. WOODROFFE A. J., WILSON C.B., 1977, J. Immunol., *118*, 1 178.

YAHARA I., EDELMAN G. M., 1975, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., *72*, 1 579. YU. A., WATTS H., JAFFÉ N., PARKMAN R., 1977, N. Engl., J. Med., *297*, 121. YU D. T., PETER J. B., 1974, Sem. Arthr. Rheum., *4*, 25.

ZABRISKIE J. B., HSU K. C., SEEGAL B. C., 1970, Clin. exp. Immunol, *7*, 147. ZABRISKIE J. B., UTERMOHLEN V., Read S. E., FISCHETTI V. A., 1973, Kidney Int., *3*, 100. ZEMBALA M., MYTAR B., POPIELA T., 1977, Int. J. Cancer, *19*, 605. ZEYA H. I., SPITZNAGEL J. K., 1968, J. exp. Med., *127*, 927. ZIFF M., 1973, Feder. Proc., *32*, 131. ZIFF M., GRIBETZ H. J., LOSPALLUTO J., 1960, *39*, 405. ZUBLER R. H., LANGE G., LAMBERT P. H., MIESCHER P. A., 1976, J. Immunol. *116*, 232. ZUBLER R. H., NYDEGGER U., PERRIN L. H., 1976, J. Clin. Invest., *57*, 1 308.

Index alfabetic

ŞTEFAN BERCEANU, EUGENIU PĂUNESCU
Biologia şi patologia imunităţii
Biology and pathology of immunity
Editura Academiei, Bucureşti, 1981, 336 p.

Contents

ŞTEFAN BERCEANU, EUGENIU PĂUNESCU
Biologia şi patologia imunităţii
Биология и патология иммунитета
Editura Academiei, Bucureşti, 1981, 336 p.

СОДЕРЖАНИЕ

Часть вторая

IV.

V.

VI.

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA

Lei [illegible]